

**BAZI BUĞDAYGİL YEM BİTKİSİ TÜRLERİNE AİT
POPULASYONLARIN ÇEKİRDEK DNA İÇERİKLERİNİN
FLOW SİTOMETRİ YÖNTEMİYLE BELİRLENMESİ VE
PLOİDY ANALİZİ İLE TÜR TEŞHİSİNDE KULLANIMI**

Proje Yürütücüsü: Prof.Dr. Metin TUNA

Araştırmacılar: Doç. Dr. Evren CABI

Haziran 2014, TEKİRDAĞ

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
İÇİNDEKİLER.....	II
TABLO LİSTESİ.....	IV
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	V
ÖZET.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	3
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	9
3.1. Bitki materyali.....	9
3.2. Bitkilere Ait Tohumların Ekilmesi ve Yetiştirilmesi.....	9
3.3. Çekirdek DNA analizi.....	10
3.3.1 Staining solüsyonun hazırlanması.....	12
3.3.2. Çekirdek DNA İçeriğinin Hesaplanması.....	12
3.4. İstatistiksel analiz.....	13
3.5. Mitoz kromozomlarının sayılması.....	13
3.5.1. Kök uçlarının eldesi.....	13
3.5.2. İlk İşlem.....	13
3.5.3. Materyalin tespiti.....	13
3.5.4. Hidroliz.....	13
3.5.5. Feulgen boyaması.....	13
3.5.6. Preparatların hazırlanması.....	13
3.5.7. Fotoğraf çekimi.....	13
3.6. Taksonomik Teşhisler.....	14

3.7. Morfolojik ve Tarımsal Özelliklerin İncelenmesi.....	14
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	14
4.1. <i>Agropyron cristatum</i>	14
4.2. <i>Koeleria species</i>	16
4.3. <i>Festuca species</i>	18
4.4. <i>Phleum species</i>	25
5. SONUÇ.....	32
6. KAYNAKLAR.....	33

TABLO LİSTESİ

	SAYFA
Tablo 1. <i>Agropyron cristatum</i> populasyonlarının piko gram olarak ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri.....	15
Tablo 2. <i>Koaleria</i> populasyonlarının piko gram olarak ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri.....	17
Tablo 3. <i>Festuca</i> populasyonlarının piko gram olarak ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri.....	20
Tablo 4. <i>Phleum</i> populasyonlarının piko gram olarak ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri.....	26
Tablo 5. Teşhis edilen populasyonlar.....	28
Tablo 6. <i>Koeleria</i> taksonları arasındaki morfolojik farklılıklar.....	30
Tablo 7. <i>Festuca</i> taksonları arasındaki morfolojik farklılıklar	30
Tablo 8. <i>Phleum</i> taksonları arasındaki morfolojik farklılıklar	31

ŞEKİLLER LİSTESİ

	SAYFA
Şekil 1. Bitkilerin serada çimlenme zamanlarındaki görünüşleri.....	9
Şekil 2. Bitkilerin deneme alanındaki	10
Şekil 3. Analiz için örneğin hazırlanmasında kullanılacak yaprak dokularının petri kabında görünüşü.....	10
Şekil 4. Dokuların jilet ile parçalanması ve çalkalanması.....	11
Şekil 5. Dokuların parçalanmadan sonra filtre ile süzülerek tüplere transfer edilmesi.....	11
Şekil 6. Parçalanmış dokuların üzerine staining solüsyonunu ilavesi, örneklerin buz dolabında inkübasyonu ve flow cihazı ile analizinin görünüşü.....	11
Şekil 7: Örneğin standart bitki ile analiz edilmesinden sonra elde edilen flow histogramı.....	12
Şekil 8. <i>Agropyron cristatum</i> ve standart olarak kullanılan <i>Secale</i> cereale bitkilerine ait G1 piklerinin bir birine göre pozisyonları.....	15
Şekil 9. <i>Agropyron cristatum</i> bitkisine ait mitoz kromozomlarının görünüşü	16
Şekil 10. Diploid ve tetraploid <i>Koeleria</i> bitkileri ile standart olarak kullanılan <i>Vicia sativa</i> bitkilerine ait G1 piklerinin bir birine göre pozisyonları.....	18
Şekil 11. Diploid ve tetraploid <i>Koeleria</i> bitkilerine ait mitoz kromozomlarının görünüşü.....	18
Şekil 12. Diploid ve octaploid <i>Festuca</i> bitkileri ile standart olarak kullanılan <i>Vicia sativa</i> bitkilerine G1 piklerinin bir birine göre pozisyonları.....	24
Şekil 13. Diploid, tetraploid, hexaploid, ve octaploid <i>Festuca</i> bitkilerine ait mitoz kromozomlarının görünüşü.....	24
Şekil 14. Triploid <i>Festuca</i> bitkisine ait mitoz kromozomlarının görünüşü.....	25

Şekil 15. Tetraploid ve hexaploid <i>Phleum</i> bitkileri ile standart olarak kullanılan <i>Zea mays</i> bitkilerine ait G1 piklerinin bir birine göre pozisyonları.....	27
Şekil 16. Tetraploid ve hexaploid <i>Phleum</i> bitkilerine ait mitoz kromozomlarının görünüşü.....	28

ÖZET

Buğdaygil yem bitkisi türlerinin taksonomisi oldukça karmaşık olup türlerin teşhisi ve sınıflandırılması ciddi bir uzmanlık gerektirmektedir. Aynı cins içerisinde yer alan buğdaygil türlerinin birbirlerine çok benzemeleri, aralarında kolayca melezlenerek hibrit türler oluşturabilmeleri ve doğal varyasyon sebebiyle bu türlerin teşhislerinde ciddi sorunlar yaşanmaktadır. Buna ilave olarak buğdaygil yem bitkilerinde polyploidi olayıda çok yaygındır ve aynı türün dahi farklı kromozom sayılarına sahip formları mevcuttur. Bundan dolayı buğdaygil bitkilerine ait genetik kaynakların bilimsel araştırma ve ıslah çalışmalarında kullanılmadan önce tür teşhislerinin doğru bir şekilde yapılarak ploidi düzeylerinin belirlenmesi zorunludur. Bu çalışmanın amacı ıslah programlarında kullanmak amacıyla ülkemizin Doğu Anadolu Bölgesinden yeni toplanmış olan 215 buğdaygil yem bitkisi populasyonunun (*Festuca* sp, *Phleum* sp, *Koeleria* sp ve *Agropyron* sp) çekirdek DNA içeriklerini flow sitometri yöntemi ile ilk defa belirlemek ve elde edilen bilgiyi koleksiyonu oluşturan türlerin teşhisi ve ploidi düzeylerinin belirlenmesinde kullanmaktır. Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre çalışma kapsamında karakterize edilen *Koeleria*, *Festuca* ve *Phleum* genetik kaynak koleksiyonlarının birden fazla tür ve ploidy düzeyini içerdiği belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlarda buğdaygil yem bitkisi genetik kaynaklarının ıslah programlarına dahil edilmeden önce muhakkak karakterize edilmelerinin gerekli olduğunu bu tür çalışmalar içinde flow sitometrinin şu an mevcut olan en hassas, hızlı, ucuz ve güvenilir metot olduğunu ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Buğdaygil yem bitkileri, *Agropyron*, *Festuca*, *Koeleria*, *Phleum*, flow sitometri, çekirdek DNA içeriği, ploidy, taksonomi

ABSTRACT

Grass species included in the same genus are very similar to each other morphologically. They hybridize with each other in the nature easily and create hybrids. They also show natural variation. All of these make identification of the forage grasses and their taxonomy quite complicated. In addition to this, ploidy is also a common phenomenon in grasses and chromosome number varies even within the same species due to polyploidy. Therefore, it is necessary to identify species included in the forage grass germplasm collections and determine their ploidy correctly prior using them in research and breeding programmes. The objective of this study was to determine nuclear DNA content of 215 grass populations (*Festuca* sp, *Phleum* sp, *Koeleria* sp ve *Agropyron* sp) collected from natural flora of Eastern Turkey and use the the information in identification of the species and ploidy analysis. Based on the results of the nuclear DNA content analysis done by using flow cytometer, *Koeleria*, *Festuca* ve *Phleum* collections investigated in this study included more than one species and ploidy levels. The results of this study proved one more time that grass genetic material collected from nature can have a mixture of different species and ploidy levels. Therefore, they need to be characterized before include them in research and breeding programmes and flow cytometer is the most accurate, cheap, and fast method for this type of studies.

Keywords: Forage grasses, *Festuca*, *Phleum*, *Koeleria*, *Agropyron*, flow cytometer, nuclear DNA content, ploidy, taxonomy

1. GİRİŞ

Buğdaygil yem bitkisi türlerinin taksonomisi oldukça karmaşık olup türlerin teşhisi ve sınıflandırılması ciddi bir uzmanlık gerektirmektedir. Aynı cins içerisinde yer alan buğdaygil türlerinin birbirlerine çok benzemeleri, aralarında kolayca melezlenerek hibrit türler oluşturabilmeleri ve doğal varyasyon sebebiyle bu türlerin teşhislerinde ciddi sorunlar yaşanmaktadır. Buna ilave olarak buğdaygil yem bitkilerinde polyploidi olayıda çok yaygındır ve aynı türün dahi farklı kromozom sayılarına sahip formları mevcuttur. Bundan dolayı buğdaygil bitkilerine ait genetik kaynakların bilimsel araştırma ve ıslah çalışmalarında kullanılmadan önce tür teşhislerinin doğru bir şekilde yapılarak ploidi düzeylerinin belirlenmesi zorunludur. Aksi taktirde yapılacak olan melezlemelerde ortaya çıkabilecek genetik uyumsuzluk ve kısırlık gibi sorunlar araştırmacıların zaten kıt olan emek, zaman ve maddi kaynaklarının heba olmasına sebep olmaktadır.

Bitkilerin ploidi düzeyi geleneksel olarak yavaş ve çok fazla iş gücüne gereksinim gösteren feulgen veya asetokarmin ile boyanmış kök ucu dokularından yapılmış preparatlar üzerindeki mitoz kromozomlarını ışık mikroskobu ile sayarak belirlenmektedir. Ancak, yöntem genetik kaynak koleksiyonlarında olduğu gibi çok sayıda bitki örneğinin analiz edilmesinin gerektiği durumlarda ploidi düzeyi belirlemede pratik ve kullanışlı değildir. Buna ilave olarak, kromozomları küçük ve ploidi düzeyi yüksek olan türlerde bu yöntem ile ploidi analizi oldukça zahmetlidir ve çoğunlukla da genetik kaynakların yanlış sınıflandırılmasına neden olmaktadır.

Bitkilerin sahip olduğu tüm kromozomlar hücre çekirdeğinde bulunduğundan, çekirdek DNA miktarı ile ploidi düzeyi arasında sıkı bir doğrusal ilişki vardır. Bu nedenle çekirdek DNA içeriği esasına göre ploidi analizi giderek yaygınlaşmaktadır. Önceleri bitkilerde çekirdek DNA miktarları feulgen mikrospektrofotometri ile belirlenmekteydi. Ancak, son yıllarda, kolaylığı, hızı ve güvenilirliğinden dolayı flow sitometri ploidi analizlerinde tercih edilen metot olmuş ve başarıyla kullanılmaktadır.

Bir bitki hücresindeki DNA miktarı "C" harfi ile pikogram cinsinden belirtilir. C değeri haploid genom; 2C değeri ise diploid somatik genomun DNA miktarını ifade etmektedir. Bitkilerin çekirdek DNA larına ait C değerleri 0.1 pg ile 125 pg arasında değişmektedir. Pikogram cinsinden belirlenen DNA miktarları nükleotid baz çiftine (1pg = 980 Mbp) dönüştürülebilmektedir. Genom başına çekirdek DNA miktarı hem tek bir bitkinin hücreleri arasında hemde aynı türün farklı bireyleri arasında

değişmeyerek sabit kalmakta ve bu yüzden de türlere özel olmaktadır. Çekirdek DNA miktarlarının türlere özel olması, çekirdek DNA' sı değerlerini sitotaksonomi ve evrim çalışmaları için vazgeçilmez bir temel bilgi yapmaktadır.

Bu araştırma projesi kapsamında ıslah programlarında kullanmak amacıyla ülkemizin Doğu Anadolu Bölgesi doğal florasından toplanmış olan 4 buğdaygil yem bitkisi cinsine (*Festuca* L., *Phleum* L., *Koeleria* Pers. ve *Agropyron* Gaertn.) ait 215 adet doğal populasyonun çekirdek DNA içerikleri belirlenmiş ve bilgi türlerin teşhisi ile ploidy düzeylerinin belirlenmesinde kullanılmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Ülkemizde hayvancılık faaliyetleri toplam alanları 12 milyon hektarı bulan çayır ve meraya dayalı küçük aile işletmeleri şeklinde yürütülmektedir. Çayır meralar üzerindeki bitki örtüsünü oluşturan türler bu alanların kullanım şekline, bölgenin iklim, toprak ve coğrafi koşullarına göre değişmektedir.

Projemiz kapsamında üzerinde çalışacağımız cinslerden birisi olan *Festuca* L. cinsi *Poeae* oymağının alt oymağı olan *Loliinae* içerisinde bulunur ve dünya genelinde 500' ün üzerinde tür sayısına sahiptir. *Festuca* cinsinin üyeleri dorsalde yuvarlaklaşmış lemma ve doğrusal bir hilum ile karakterize edilirler (Clayton ve Renvoize, 1986; Watson ve Dallwitz, 1992).

Markgraf-Dannenberg (1985), P.H. Davis'in Türkiye ve Doğu Ege Adaları Florasında (9: 400-442. 1985) *Festuca* cinsi için 44 tür ve 53 takson kaydetmiştir. Bu 53 taksonun 27 tanesi ülkemize endemik olup *Poaceae* familyası içerisinde bulunan endemizm oranı en yüksek cinslerden biridir. *Festuca* cinsinin üyeleri oldukça yüksek bir çeşitlilik göstermekte olup, çayır-meralar (doğal veya suni) ile yeşil alanların en önemli bileşenlerindedirler. Buna ilave olarak toprak koruma amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Rognli ve ark. 2010). Ülkemizde doğal olarak yetişmekte olan *Festuca* cinsi üyeleri geniş bir ekolojik toleransa sahip olup, deniz seviyesinden alpin çayırliklara kadar yayılış göstermektedirler (Markgraf-Dannenberg, 1985).

Festuca cinsi içerisinde bulunan türler geniş ve dar yapraklılar olarak 2 ana guruba ayrılmaktadırlar. Geniş yapraklılar gurubu yem bitkisi olarak kullanılan *F. pratensis* ve *F. arundinaceae* gibi türleri kapsamakta iken dar yapraklılar gurubu yeşil alan bitkisi olarak kullanılan *F. rubra* ve *F. ovina* komplekslerini içermektedir (Rognli ve ark. 2010; Açıkgöz, 1991). Bitki morfolojisi, phenoljik özellikler ve yapılacak sitogenetik analizler sonucu *F. rubra* kompleksi içerisinde bulunan türler *F. ovina* kompleksi içerisinde yer alan türlerden ayrılabilir (Schmit, ve ark., 1974). Fakat kompleksler içerisindeki türleri birbirinden ayırmak çok daha zordur (Ruemmele, ve ark., 1995). *Festuca* cinsi içerisinde ploidi düzeyi diploid ($2n=2x=14$) ile decaploid ($2n=2x=70$) arasında değişim göstermektedir (Smarda ve ark, 2008).

Festuca cinsinin taksonomisinde yaprak anatomisi 1882 yılından beri kullanılmaktadır (Aiken and Consaul, 1995). Hackel (1882) Avrupa kıtasına dair cinsin ilk monografisini sunmuş ve 37 taksonun karakteristik özelliklerini block

diagramlar (block diagrams) çizerek ortaya koymuştur. Metcalfe (1960) birçok *Festuca* türünün betimleyici özelliklerini ve detaylı anatomik bilgilerini vermiştir. Tzvelev (1976) Rus Florasında (U.S.S.R). ve Alexeev (1982) ise Kuzey Amerika Florasında yaprak enine kesitlerini önemli derecede taksonomik teşhislerde kullanmıştır. Avrupa Florasında Markgraf-Dannenbergl (1980; 1985), yaprak enine kesitlerle ilgili olarak yaprağın adaksiyal yüzeyinde bulunan damar sayısı, sklerankimatik dokuların iletim demetlerine oranla dağılımı, bulliform hücrelerinin varlığı gibi anatomik özellikleri tür teşhisinde kullanmıştır.

Phleum L. (İt Kuyruğu, yada Celp Kuyruğu) cinsi dünya genelinde 15 türü içeren tek yıllık ve çok yıllık türlerden oluşmaktadır. Cinsin taksonomisi konusunda araştırmacılar arasında tam bir uzlaşma olmamasına rağmen (Kula ve ark., 2006) cinsin bir birine yakın akraba olan ve kısmen melezlenebilen 2 ana gruba ayrıldığı bitki taksonomistleri arasında geniş bir kabul görmektedir. *P. alpinum* L. ve *P. commutatum* gibi yabancı türleri bünyesinde bulunduran birinci grup diploid ($2n=2x=14$) ve tetraploid ($2n=2x=28$) formları içermektedir. Tetraploid formlar Avrupa, Asya, Kuzey ve Güney Amerikada yayılış gösterirken diploidler sadece Avuranın dağlık bölgelerinde bulunmaktadır. İkinci grup ise nispeten daha az yüksekliğe sahip bölgelere daha iyi adapte olmuş olan hexaploid ($2n=2x=42$) *P. pratense* ile diploid, tetraploid ve octoploid ($2n=2x=56$) formları içermektedir (Stewart ve ark., 2008). Bu cinsin üyeleri genel olarak 20-150 cm uzunluğunda olup, küme oluşturmuş, yoğun bir şekilde bir araya gelmiş olan başakçıkların oluşturduğu silindirik şekilli bir çiçek durumuna sahip olmakla karakterize edilir. Türkiye ve Ege Adaları da dahil olmak üzere toplam 12 türün varlığının tespit edilmesine karşın, bu cins bünyesinde ülkemiz sınırları içerisinde kesin olarak bilinen 9 tür ve 12 takson doğal olarak yayılış göstermektedir (Doğan 1985). Cinsin bünyesinde bulunan taksonlar deniz seviyesindeki kumullardan alpin çayırılıklara kadar uzanan geniş bir ekolojik toleransa sahiptirler (Cabi ve Doğan 2012b). *Phleum* cinsinin üyeleri yıllık yağışı 450 mm'nin üzerinde olan serin ve nemli bölgelere adapte olmuştur. Soğuğa dayanıklıdır. Çoğunlukla kuru ot elde etmek amacıyla yetiştirilirler. Fakat mera karışımlarında da yer alır (Hatipoğlu ve ark., 2009).

Koeleria Pers., cinsi üyeleri ülkemizde genel olarak kırnal ismiyle bilinirler ve, step ekosistemlerinin önemli bileşenlerini oluştururlar. *Koeleria* Pers. cinsi dünya genelinde 35–40 tür ile temsil edilmektedir (Meusel et al., 1965). Cinsin üyeleri

Avrupa, Kuzey Amerika, Avustralya, Yeni Zellanda, ve Afrika, Asya ile Güney Amerikanın tropical olmayan bölgelerinde geniş bir yayılım göstermektedir (Pecinka ve ark., 2006). *Koeleria* cinsi ülkemizde ise *K. brevis* Steven, *K. eriostachya* Pančić, *K. lobata* (M.Bieb.) Roem. & Schult., *K. macrantha* (Ledeb.) Schult., *K. nitidula* Velen. ve *K. pyramidata* (Lam.) P. Beauv. türleri ile temsil edilmektedir (Cabi ve Doğan 2012c). *Koeleria* türlerinin temel kromozom sayısı $x=7$ olup, ploidi düzeyi diploid ($2n=2x=14$) ile dodecaploid ($2n=2x=84$) arasında değişim göstermektedir (Pecinka ve ark., 2006). *Koeleria* cinsi 20. yüz yılda defalarca revize edilmesine rağmen sistematiji ile ilgili bir çok temel sorun hala tam olarak çözüme kavuşturulamamıştır. Buna en büyük sebep olarak cinsin içerdiği türlerin morfolojik berzerlikleri gösterilmiştir (Pecinka ve ark., 2006). Doğal meraların en erken olgunlaşan, erken ilkbaharda vejetatif forma geçen ilk buğdaygillerdendir. Özellikle kıraç ve Alpin yüksek dağ meralarında toprak ıslahında kullanılabilir. Kurağa toleranslıdır. Kıraç meralarda ve özellikle koyun meralarında doğal olarak yetişen önemli bir yem bitkisi olduğundan, bu meraların ıslahında başarı ile kullanılmaktadır. (Karadağ ve ark., 2009).

Agropyron Gaertn., *Poaceae* (Buğdaygiller) familyası içerisinde bulunan *Agropyron* Gaertn. cinsi ekonomik açıdan önemli olan *Triticum* L. , *Hordeum* L. ve *Secale* L. cinslerinin de içinde bulunduğu *Triticeae* oymağının içerisinde yer almaktadır. *Agropyron* cinsi önceleri 100 ün üzerinde tür sayısı ile bu oymak bünyesindeki en büyük cins olarak değerlendirilmekteydi (Dewey 1983). Nevski (1934) yapmış olduğu taksonomik değerlendirmesinde bu cinsi sadece P genomuna sahip, glumaları omurgalı olan çok yıllık taksonlara indirgeyip diğer taksonları ise *Elytrigia* Desv, *Roegneria* C. Koch ve *Elymus* L. cinsleri altında değerlendirmiştir. Sonraki yıllarda bu görüş diğer taksonomik çalışmalarda da kabul görmüş olup bu cins bünyesinde sadece P genomuna sahip olan diploid, tetraploid, ve hekzaploid taksonların varlığı ortaya konmuştur (Jensen ve ark. 2006).

Agropyron cinsinin sınırları net olmasına karşın cins içi sınıflandırmada bitki taksonomistleri arasında ciddi bir görüş ayrılığı mevcuttur. Dewey ve Pendse (1967) değerlendirmesinde ploidy seviyesi ne olursun olsun, bütün morfolojik olarak birbirinden ayrılan taksonları tek bir tür altında toplamış olmasına karşın Tzvelev (1976) bu cins bünyesinde 11 tür ve *Agropyron cristatum* türünün altında da 9 alttür belirlemiştir.

Türkiye Florasında, Melderis (1985) *Agropyron* cinsine ait sadece bir tane tür, *A. cristatum*, saptamış, ve bu türü de alttür. *incanum* (Kop ayrığı) ve alttür *pectinatum* (otlak ayrığı) olmak üzere iki alttüre ayırmıştır. Alttür *incanum* Doğu Anadolu Bölgesinde yüksek dağ steplerinde yayılış gösterirken alttür *pectinatum* Türkiye genelinde geniş bir yayılışa sahiptir. Alttür. *pectinatum* kendi içerisinde spikeletlerin tüylülük derecesine göre de var. *imbricatum* ve var. *pectinatum* olmak üzere iki varyeteye ayrılmıştır (Melderis 1985).

Cabi (2010) ülkemiz genelinde gerçekleştirdiği *Triticeae* oymağının revizyonu isimli doktora tezi esnasında bu cinsin revizyonunu gerçekleştirmiş ve bu cins kapsamında ülkemizde 3 türün varlığını tespit etmiştir. Bu türler *A. imbricatum* Roem. & Schult., *A. cristatum* (L.) Gaertn., ve *A. incanum* (Nábělek) Tzvelev türleridir.

Agropyron cristatum step meraların doğal bitkisi olup, Orta ve Doğu Anadolu bölgelerimizin meralarında doğal olarak bulunur. Yıllık yağışın 200-450 mm olduğu ılıman yerlere iyi uyum sağlar. Kurağa ve sıcağa oldukça dayanıklıdır. Toprak isteği bakımından seçici olmamakla birlikte, orta derecede tuzluluğa tolerans gösterir (Altın ve ark., 2009).

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

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

Bitkilerin sahip olduğu tüm kromozomlar hücre çekirdeğinde bulunduğundan, çekirdek DNA miktarları ploidy düzeyinin ifadesi olarak kullanılabilir (Lu ve

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

Genom başına çekirdek DNA miktarı hem tek bir bitkinin hücreleri arasında hemde aynı türün farklı bireyleri arasında değişmeyerek sabit kalmakta ve bu yüzden de türlere özel olmaktadır (Bennett ve Leitch, 1995). Bir bitki hücreindeki DNA miktarı C harfi ile pikogram cinsinden belirtilir. C değeri haploid genom; 2C değeri ise diploid somatik genomun DNA miktarını ifade etmektedir. Angiospermlerin çekirdek DNA larına ait C değerleri 0.1 pg ile 125 pg arasında değişmektedir. Pikogram cinsinden belirlenen DNA miktarları nükleotid baz çiftine (1pg = 980 Mbp) dönüştürülebilir (Bennett ve ark., 2000). Çekirdek DNA miktarlarının türlere özel olması, çekirdek DNA' sı değerlerini taksonomi, evrim ve moleküler genetik çalışmaları için vazgeçilmez temel bilgi yapmaktadır (Bennett and Leitch, 1995). Rees ve Walters, (1965) feulgen metodu ile belirlenmiş çekirdek DNA miktarlarından yola çıkarak hexaploid olan ekmeklik buğdayın kökeni olan yabancı buğday türlerini belirlemiş ve evrimini incelemiştir.

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

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

Festuca cinsi içerisinde türlerin monoploid çekirdek DNA içeriğinin (2C DNA içeriği / temel kromozom seti sayısı) 1.58 ile 4.03 pg arasında değişmektedir (Bennett and Leitch, 2004). *Festuca* cinsi içerisindeki monoploid çekirdek DNA içeriği

bakımından gözlenen bu farklılığın cinsin sınıflandırılmasında yararlı olduğu saptanmıştır (Lourerio ve ark., 2007).

Samarda ve arkadaşları (2008) 101 festuca taksonu ve 14 yakın akrabasının çekirdek DNA içeriklerini flow sitometri ile belirlemiş ve cinsin içerisinde 2C çekirdek DNA içeriğinin 3.88 pg (*F. arvensis*) ile 24.08 pg (*F. gamisansii*) arasında değiştiğini gözlemişlerdir. Araştırmacılar yaptıkları bu araştırmadan elde ettikleri çekirdek DNA içeriği sonuçları ile cinsin taksonomik sınıflandırmasını yaparak filogenetiğini incelemişlerdir. Yapılan bu çalışmada çekirdek DNA içeriğine göre yapılan taksonomik sınıflandırmanın ITS ve trnL-F sekansları esasına göre yapılmış önceki sınıflandırmalar ile paralellik gösterdiği saptanmıştır.

Yapılan bir çalışmada Kaliforniyadan elde edilmiş olan *Phleum commutatum* ile Avrupadan elde edilen *Phleum comm. utatum* ve *Pehleum rhaeticum*' un çekirdek DNA içeriği saptanmıştır. Yapılan bu çalışmada tetraploid türlerin 2C çekirdek DNA içerikleri 6.2 pg olarak belirlenirken 2C çekirdek DNA içeriğinin diploidler arasında 2.4 pg ile 2.9 pg arasında değiştiği gözlenmiştir (Kula ve ark., 2006).

Avrupada doğal olarak yetişmekte olan Koeleria taksonları üzerinde yapılan bir çalışmada diploid taksonlar arasında 2C çekirdek DNA içeriğinin 4.85 pg ile 5.20 pg arasında değiştiği saptanmıştır. Yapılan aynı çalışmada tetraploid, decaploid ve dodecaploid taxonların 2C çekirdek DNA içerikleri ise sırasıyla 9.31 pg, 22.89 pg ve 29,23 pg olarak belirlenmiştir (Pecinka ve ark., 2006).

Agropyron türlerinin 2C çekirdek DNA içeriğinin ise 13.19 pg ile 26.39 pg arasında değiştiği saptanmıştır (Vogel ve ark., 1999).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Bitki Materyali: Bu araştırma projesinde, ıslah programlarında kullanmak amacıyla Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından ülkemizin Doğu Anadolu Bölgesi doğal florasından toplanmış olan 4 buğdaygil yem bitkisi cinsine ait genetik kaynak koleksiyonlarını oluşturan 215 populasyon (131 *Festuca*, 46 *Phleum*, 24 *Koeleria*, ve 14 *Agropyron*) bitki materyali olarak kullanılmıştır. Bitkilerin toplandığı lokasyonlar ve onlara ait coğrafi bilgiler materyalleri toplayan araştırmacıların kayıt tutmaması nedeniyle maalesef mevcut değildir. Bu konuda sadece populasyonların bölgenin dağlık alanlarından toplandığı bilinmektedir.

3.2. Bitkilere Ait Tohumların Ekilmesi ve Yetiştirilmesi: Projenin bitki materyalini teşkil eden 215 populasyonun her birine ait tohumlar 15 ile 16 Kasım, 2012 tarihleri arasında 3:1 oranında steril torf ve perlit kullanılarak viyollere ekilmiştir (Şekil 1). Her populasyondan 10 tek bitki elde edebilmek için viyollerin gözeneklerine 5-6 tohum ekilmiş ve çıkıştan sonra her gözenekte tek bir bitki kalacak bir şekilde seyreltme yapılmıştır. Kış boyunca viyollerde plastik sera içerisinde yetiştirilen fideler Nisan, 2013 tarihinde her populasyondan 7 bitki olacak şekilde aralıklı olarak (100 cm X 100 cm) tarlaya şaşırtılmıştır.



Şekil 1. Bitkilerin serada çimlenme zamanlarındaki görünüşleri



Şekil 2. Bitkilerin deneme alanındaki görünüşleri (soldan sağa doğru; 1. *A. Cristatum*, 2. *Fescue species*, ve 3. *Phleum* ve *Koeleria* türleri birlikte

3.3. Çekirdek DNA analizi: Çekirdek DNA analizleri Tarla bitkileri Ana Bilim Dalı Bitki Genetiği ve Sitogenetiği Laboratuvarında bulunan PARTEC marka Flow sitometri cihazı kullanılarak yapılmıştır. Çekirdek DNA analizi 2013 ve 2014 bahar aylarında tarlada yetişmekte olan bitkilerden elde edilen taze yaprak dokuları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analizler *Agropyron cristatum* hariç her populasyon için 5 tek bitki üzerinde ayrı ayrı yapılmış ve populasyon ortalaması hesaplanmıştır. *Agropyron cristatum*da ise büyük bir varyasyon gözlenmemesi sebebiyle her populasyondan 3 bitki analiz edilmiştir. Analizlerde *Agropyron* için çavdar, *Festuca* ve *Koeleria* için adi fiğ, *Phleum* için mısır bitkisi internal standart olarak kullanılmıştır. Analizlerde PARTEC firmasının hazır kitleri kullanılmış ve üretici firmanın protokolü takip edilmiştir. Çalışmada kullanılan protocol kısaca aşağıdaki gibidir.

1-Yaklaşık olarak 0,5 cm² büyüklüğünde taze yaprak dokusu petri kabına konur ve üzerine 500 µl Extraction Buffer ilave edilir (Şekil 3).



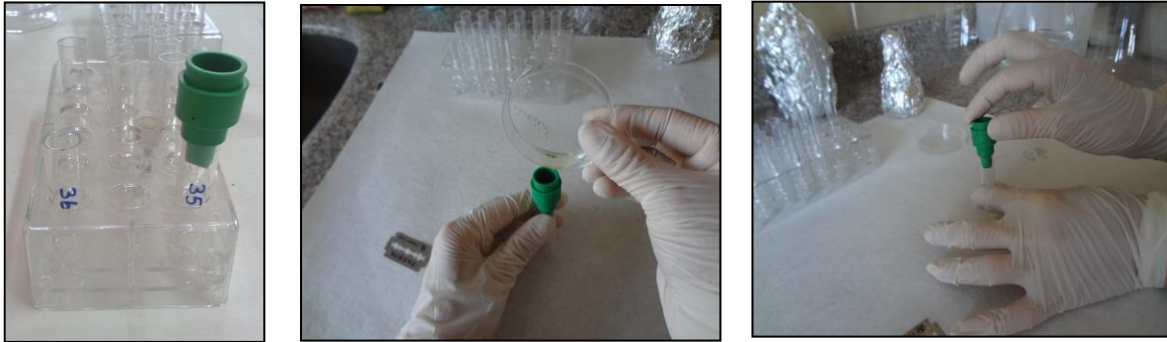
Şekil 3. Analiz için örneğin hazırlanmasında kullanılacak yaprak dokularının petri kabında görünüşü

2- Yaprak dokusu keskin jilet ile 30-60 saniye süresince küçük parçalara ayrılana kadar parçalanır. Bu şekilde hazırlanmış örnek petri kabı içerisinde hafifçe 10-15 saniye kadar çalkalanır (Şekil 4).



Şekil 4. Dokuların jilet ile parçalanması ve çalkalanması

3- Çalkalama işleminden sonra 40 saniye kadar petri kabında bekletilen örnek Partec marka 50 µl CellTrics filtre ile süzülerek tüp içerisine transfer edilir (Şekil 5).



Şekil 5. Dokuların parçalanmadan sonra filtre ile süzülerek tüplere transfer edilmesi

4-Tüp içerisine daha önce hazırlanmış 2ml staining solüyon ilave edilerek hazırlanan örnek ışıksız bir ortamda 30-60 dakika inkübe edilir. Bu sürenin sonunda örnekler flow sitometri cihazı kullanılarak analiz edilir (Şekil 6).



Şekil 6. Parçalanmış dokuların üzerine staining solusyonunu ilavesi, örneklerin buz dolabında inkübasyonu ve flow cihazı ile analizinin görünüşü

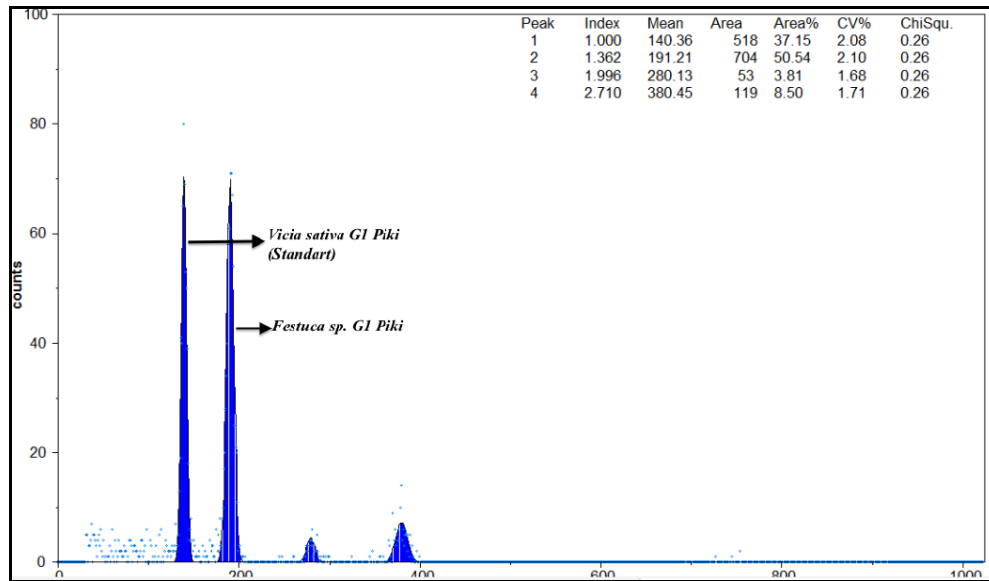
3.3.1. Staining Solüsyonun Hazırlanması: Her örnek için; 2 ml Staining Buffer, 6 µl RNase stok solüsyon, 12 µl PI (Propidium Iodide) stok solüsyonu karıştırılarak staining solüsyonu hazırlanır

3.3.2. Çekirdek DNA İçeriğinin Hesaplanması: Çekirdek DNA içeriği mutlak olarak belirlenmek istendiğinde, örneğin DNA içeriği, DNA içeriği bilinen bir standart bitki ile kıyaslanır. Bu durumda standart bitkinin dokuları da analiz edilecek örneğe ait dokularla birlikte aynı anda hazırlanır. Bu şekilde hazırlanmış bir örnek analiz edildiğinde elde edilecek olan flow histogramda 4 pik gözlenir (Şekil 7). Bu piklerden ikisi analiz edilen örneğe, diğer ikisi de standart bitkiye aittir. Piklerin hangilerinin örneğe hangilerinin standarda ait olduğunu saptamak için örnek ile standardın dokularından hazırlanmış numuneler önce ayrı olarak analiz edilirler ve piklerin yerleri gözlenir. Bir örneğin mutlak çekirdek DNA içeriği, örnek ile seçilen standardın G1 piklerinin floresan yoğunluklarına ait değerler kullanılarak aşağıdaki formül aracılığıyla pikogram olarak hesaplanır.

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

Histogram üzerindeki değerler formülde yerine konduğunda

Örnek DNA içeriği (*Festuca*) = (191.21 / 140.36) x 3.65 = 4,97 pg



Şekil 7: Örneğin standart bitki ile analiz edilmesinden sonra elde edilen flow histogramı

3.4. İstatistiksel analiz: Her cinse ait populasyonların çekirdek DNA ortalamaları basit bir istatistiksel yöntem olan confidence intervalları kullanarak kendi aralarında kıyaslanmıştır. Her ortalama için confidence interval aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

$$P(\bar{X}_1 - t_{0.05} S_{\bar{X}} < \mu < \bar{X}_1 + t_{0.05} S_{\bar{X}}) = 0.95$$

Formülde $t_{0.05}$ "t" statistiği ve $s_x = s/n^{1/2}$. n her bir populasyonda analiz edilen bitki sayısı ve s onların Standard sapmasıdır. Confidence intervalleri örtüşen ortalamaların bir birinden farklı olmadığı kabul edilir. Bu bakımdan yapılan analiz ortalamaları kıyaslamak için yapılan t testi ile aynıdır (Steel and Torrie, 1960).

3.5. Mitoz Kromozomlarının Sayılması:

Populasyonların çekirdek DNA içeriği ile kromozom sayılarını ilişkilendirmek amacıyla her cins içerisinde Çekirdek DNA içeriği bakımından farklılık gösteren populasyonları temsilen en az bir bitkinin mitoz kromozomları sayılmıştır. Kromozom sayımları kök ucu meristem dokuları kullanılarak Feulgen metoduna göre hazırlanmış olan preparatların ışık mikroskobu altında incelenmesiyle yapılmıştır.

3.5.1. Kök uçlarının eldesi: Kök uçları saksılarda yetiştirilmekte olan ergin bitkilerden bahar aylarında sabah erken saatlerde (8-10) elde edilmiştir.

3.5.2. İlk İşlem: Kök uçları 24 saat soğuk su (+4 °C) ile muamele edilmiştir

3.5.3. Materyalin tespiti: 24 saat soğuk su muamelesinden sonra kök uçları 3:1 alkol: asetik asit solusyonunda tespit edilmiş ve kullanılabileceği kadar -20 °C de muhafaza edilmiştir.

3.5.4. Hidroliz: Kök uçları 1N HCL ile 60 °C de hidroliz edilmiştir. Hidrolizin süresi 12 ile 20 dakika arasında olup, türe göre değişmiştir.

3.5.5. Feulgen boyaması: Kök uçları hidrolizden sonra, 60-90 dakika Feulgen'de bekletilmiştir. Boyama sonunda kök uçlarının 1-2 mm'lik meristem bölgelerinin koyu viyole rengine boyandığı görülmüştür.

3.5.6. Preparatların hazırlanması: Kök uçlarının koyu viyole rengine boyanan kısımları jilet ile kesilerek lam üzerine alınmış ve bistürü ucu ile ezmek suretiyle lam üzerine yayılmıştır. Dağılmış olan meristem dokusu üzerine 1 damla asetokarmin damlatılarak üzerine lamel kapatılmıştır. Düz bir zemin üzerinde lamelin üzerine baş parmak ile bastırıldıktan sonra slayt mikroskop altında incelenmiştir.

3.5.7. Fotoğraf çekimi: morfolojisi düzgün, iyi dağılmış ve kromozom sayısı tam olan hücrelerin kromozomları sayılmış ve fotoğrafları çekilmiştir.

3.6. Taksonomik Teşhisler: Çekirdek DNA analizi sonuçlarına göre her cins içerisinde oluşan grupları temsilen bazı popülasyonlara ait bitkiler taksonomik olarak incelenmiş ve teşhis edilmiştir (Tablo 5 ve 6). Bu amaçla 2012 bahar aylarında deneme alanına dikilen bitkiler kullanılmıştır. Tarladan alınan bitki örnekleri teşhise konu alan kısımları dikkate alınarak herbaryum materyali haline getirilmiş, ve Türkiye ve Doğu Ege Adaları Florasında (Davis 1989) verilen ilgili cins anahtarları kullanılarak teşhisleri gerçekleştirilmiştir.

3.7. Morfolojik ve Tarımsal Özelliklerin İncelenmesi:

Proje kapsamında karakterize edilen bitkiler 2012 Kasım ayında ekilmiş olmalarına rağmen, 2013 yılında çiçeklenmemiş, 2014 yılı bahar aylarında ise çiçeklenmeye başlamış olmalarına rağmen projenin süresinin bitmiş olmasından dolayı morfolojik özelliklere ait sonuçlar proje sonuç raporuna dahil edilememiştir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

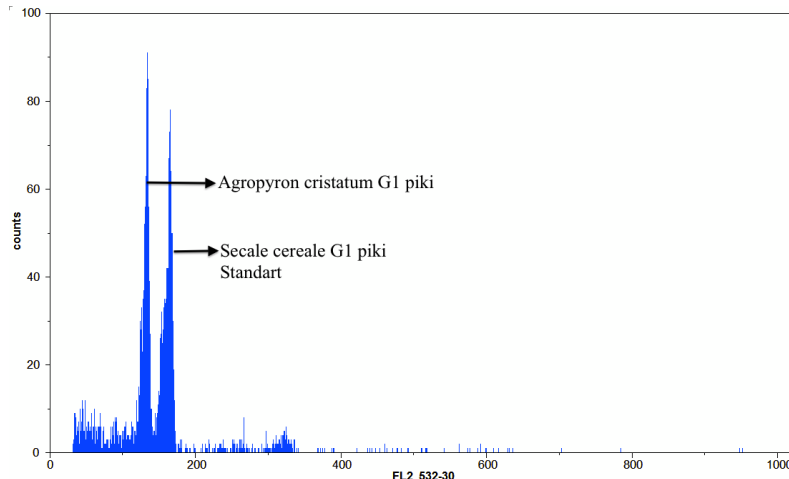
Bu çalışma bu güne kadar ülkemiz florasından toplanmış olan *Agropyron*, *Koaleria*, *Festuca* ve *Phleum* türleri üzerinde ilk kez yapılmış olan çekirdek DNA analizi sonuçlarını içermektedir. Çalışmaya konu olan türlerin yabancı döllenmiş ve bu yüzden oldukça heterojen yapıda olmasına rağmen standart sapma değerlerinin düşük olması yöntemin hassasiyetini göstermektedir (Tablo 1, 2, 3, 4).

4.1. *Agropyron cristatum*: Çalışmada Doğu Anadolu Bölgesinden Toplanmış 14 *Agropyron cristatum* popülasyonu kullanılmış ve her popülasyondan 3 bitki analiz edilmiştir. Analiz edilmiş 3 bitkinin ortalaması alınarak popülasyon ortalamaları hesaplanmıştır (Tablo 1). Yapılan analiz sonuçlarına göre *A. cristatum* popülasyonlarının ortalama çekirdek DNA içeriklerinin 12.97 pg/2C ile 13.01 pg/2C arasında değiştiği gözlenmiştir. Şekil 8 de *A. cristatum* ve standart olarak kullanılan *Secale cereale* bitkilerine ait G1 piklerinin bir birine göre pozisyonları görülmektedir. Yapılan istatistiksel analiz sonucu popülasyon ortalamaları arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemsiz olduğu saptanmıştır. Bu sonuçta çalışmada analiz edilen tüm *Agropyron* popülasyonlarının tek bir türe ait olduğunu işaret etmektedir. Üç nolu *A. cristatum* popülasyonundan bazı bitkilerin kromozomları sayıldığında tüm bitkilerin

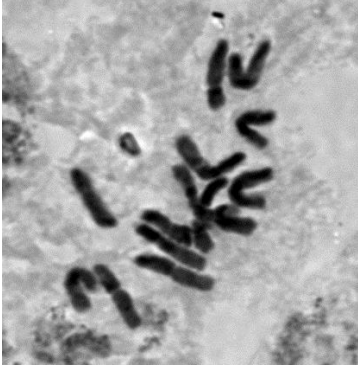
14 kromozoma ($2n = 14$) sahip olduğu ve dolayısıyla diploid oldukları belirlenmiştir (Şekil 9). Çalışmada *Agropyron cristatum* için elde edilen çekirdek DNA içeriğine ait sonuçlar Vogel ve ark. (1999) *Triticia* türlerini inceledikleri çalışmalarında *A. cristatum* için elde ettikleri ortalama çekirdek DNA içeriği (13.93) ile oldukça benzer olduğu gözlenmiştir. Aradaki küçük farklılığın çalışmalarda kullanılan standart bitkiden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Tablo 1. *Agropyron cristatum* populasyonlarının piko gram olarak ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri

Pop. no	1. bitki	2. bitki	3. bitki	Orta	SD	T*S _x	Confidence İntervals		Grup
							Düşük	Yüksek	
C1	13,03	13,05	12,89	12,99	0,09	0,07	12,92	13,06	A
C2	12,96	12,98	13,07	13,00	0,06	0,05	12,96	13,05	A
C3	12,92	13,00	13,03	12,98	0,06	0,05	12,94	13,03	A
C4	12,89	12,96	13,06	12,97	0,09	0,07	12,90	13,04	A
C5	13,00	12,94	13,02	12,99	0,04	0,03	12,95	13,02	A
C7	12,99	12,94	13,05	12,99	0,06	0,05	12,95	13,04	A
C8	13,04	12,90	12,95	12,96	0,07	0,06	12,91	13,02	A
C9	12,88	13,02	13,04	12,98	0,09	0,07	12,91	13,05	A
C10	12,96	13,00	13,03	13,00	0,04	0,03	12,97	13,03	A
C11	13,00	12,91	13,02	12,98	0,06	0,05	12,93	13,03	A
C12	12,91	12,98	13,06	12,98	0,08	0,06	12,92	13,05	A
C13	13,00	12,90	13,05	12,98	0,08	0,06	12,92	13,05	A
C14	12,97	13,02	13,04	13,01	0,04	0,03	12,98	13,04	A
C15	13,02	12,96	13,00	12,99	0,03	0,03	12,97	13,02	A



Şekil 8. *Agropyron cristatum* ve standart olarak kullanılan *Secale cereale* bitkilerine ait G1 piklerinin bir birine göre pozisyonlar



Şekil 9. *Agropyron cristatum* bitkisine ait mitoz kromozomlarının görünüşü (2n=14).

4.2. Koeleria species:

Çalışmada Doğu Anadolu Bölgesinden Toplanmış 24 *Koeleria* populasyonu kullanılmış ve her populasyondan 5 bitki analiz edilmiştir. Analiz edilmiş 5 bitkinin ortalaması alınarak populasyon ortalamaları hesaplanmıştır (Tablo 2). Yapılan analiz sonuçlarına göre *Koeleria* populasyonlarının ortalama çekirdek DNA içeriklerinin 4.81 pg/2C ile 9.40 pg/2C arasında değiştiği gözlenmiştir. Şekil 10 de bazı *Koeleria* bitkileri ile standart olarak kullanılan *Vicia sativa* bitkilerine ait G1 piklerinin bir birine göre pozisyonları görülmektedir. Yapılan istatistiksel analiz sonucu populasyonların çekirdek DNA ortalamaları arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğu saptanmış ve *Koeleria* populasyonlarının 4 farklı gruba ayrıldığı gözlenmiştir. 1. grupta (grup A) ortalama çekirdek DNA içeriği 4.86 pg/2C olan tek bir populasyon yer almaktadır. 2. grupta (grup B) ortalama çekirdek DNA içeriği 5.14 pg/2C olan yine tek bir populasyon yer almaktadır. 3. grupta ortalama çekirdek DNA içeriği 5.41 pg/2C ile 5.57 pg/2C olan 20 populasyon yer almaktadır. 4. grupta ise ortalama çekirdek DNA içerikleri 9.44 pg/2C ile 9.47 pg/2C olan 2 populasyon yer almaktadır. Yapılan kromozom sayımlarında 1., 2. ve 3. gruptaki bitkilerin 2n=14 kromozoma sahip olduğu 4. gruptaki bitkilerin ise 2n=28 kromozoma sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 11). Yapılan taksonomik değerlendirmede diploid populasyonlar *K. cristata* tetraploid türlerin ise *K. nitidula* olarak teşhis edilmişlerdir.

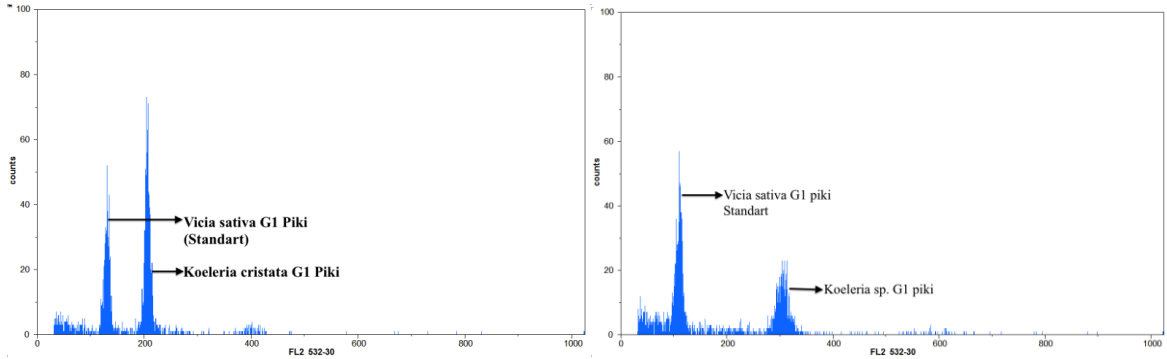
Çalışmada elde edilen sonuçlar Pecinka ve arkadaşlar (2006) ın Avrupanın orta bölgelerinden elde ettikleri *Koeleria* taksonları üzerinde yaptıkları çalışmadan elde ettikleri sonuçlar ile büyük benzerlik göstermektedir. Pecinka ve arkadaşları yaptıkları bu çalışmada 2C çekirdek DNA içeriği 4.85-5.20 pg arasında değişen 3 diploid, ortalama 2C çekirdek DNA içeriği 9.31 pg olan 1 tetraploid, ortalama 2C

çekirdek DNA içeriği 22.89 pg olan 4 decaploid ve ortalama 2C çekirdek DNA içeriği 29.23 pg olan 1 dodecaploid tür bulunduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar diploid türleri *K. glauca*, *K. macrantha*, *K. pseudoglauca* olarak, tetraploid türü *K. majoriflora*, olarak, decaploid türü *K. pyramidata* ve dodecaploid türü *K. tristis* olarak teşhis etmişlerdir. Çekirdek DNA içeriklerinin bir birine çok benzer olmasına rağmen çalışmalar arasındaki türlerin farklı türler olmaları ve Erzurum bölgesinde decaploid ile dodecaploid türlere rastlanmamasını bölgeler arasındaki flora farklılığından kaynaklanmış olabileceğini düşünmekteyiz.

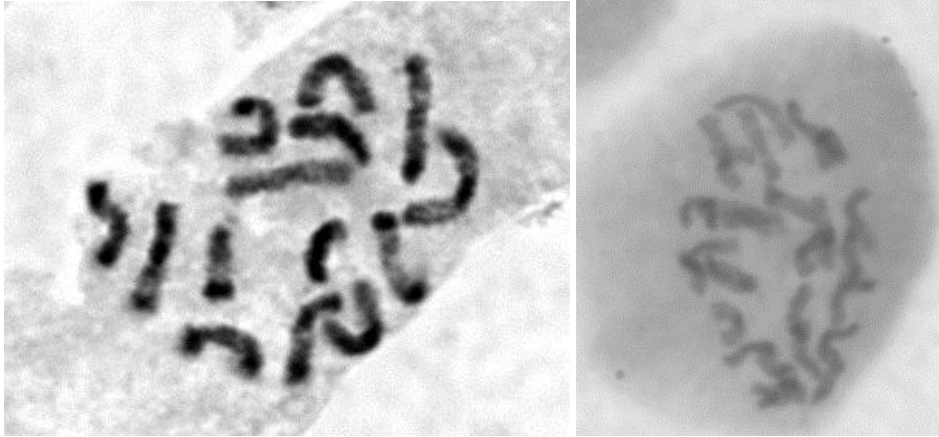
Tablo 2. *Koaleria* populasyonlarının piko gram olarak ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri

Pop. no	1.bit	2.bit	3.bit	4.bit	5.bit	Ort	SD	T*S _x	Confidence İnterval		Grup
									Yüksek	Düşük	
K3	4,80	4,85	4,82	4,87	4,71	4,81	0,06	0,05	4,76	4,86	A
K25	5,00	5,08	5,17	5,12	4,97	5,07	0,08	0,07	5,00	5,14	B
K15	5,34	5,33	5,48	5,29	5,30	5,35	0,08	0,06	5,29	5,41	C
K20	5,28	5,40	5,41	5,36	5,31	5,35	0,06	0,05	5,31	5,40	C
K21	5,33	5,40	5,29	5,49	5,30	5,36	0,08	0,07	5,29	5,43	C
K26	5,34	5,36	5,42	5,47	5,30	5,38	0,07	0,06	5,32	5,43	C
K9	5,34	5,38	5,47	5,41	5,36	5,39	0,05	0,04	5,35	5,43	C
K24	5,29	5,48	5,50	5,30	5,41	5,40	0,10	0,08	5,32	5,48	C
K18	5,35	5,43	5,51	5,33	5,40	5,40	0,07	0,06	5,35	5,46	C
K13	5,44	5,33	5,55	5,31	5,40	5,41	0,10	0,08	5,33	5,49	C
K16	5,42	5,50	5,39	5,41	5,33	5,41	0,06	0,05	5,36	5,46	C
K12	5,49	5,43	5,32	5,51	5,35	5,42	0,08	0,07	5,35	5,49	C
K7	5,34	5,43	5,57	5,29	5,50	5,43	0,11	0,09	5,33	5,52	C
K14	5,36	5,55	5,53	5,39	5,30	5,43	0,11	0,09	5,34	5,52	C
K22	5,48	5,36	5,50	5,39	5,43	5,43	0,06	0,05	5,38	5,48	C
K17	5,48	5,53	5,39	5,41	5,40	5,44	0,06	0,05	5,39	5,49	C
K23	5,39	5,46	5,55	5,36	5,48	5,45	0,08	0,06	5,39	5,51	C
K1	5,46	5,45	5,41	5,59	5,39	5,46	0,08	0,06	5,40	5,52	C
K11	5,43	5,42	5,51	5,57	5,38	5,46	0,08	0,06	5,40	5,53	C
K4	5,41	5,39	5,52	5,40	5,60	5,46	0,09	0,08	5,39	5,54	C
K8	5,41	5,57	5,44	5,36	5,55	5,47	0,09	0,07	5,39	5,54	C
K6	5,60	5,46	5,53	5,41	5,55	5,51	0,08	0,06	5,40	5,57	C
K2	9,36	9,46	9,42	9,39	9,42	9,38	0,07	0,06	9,32	9,44	D

K19	9,29	9,52	9,41	9,33	9,44	9,40	0,09	0,07	9,32	9,47	D
-----	------	------	------	------	------	-------------	------	------	------	------	---



Şekil 10. Diploid (sol) ve tetraploid (sağ) *Koeleria* bitkileri ile standart olarak kullanılan *Vicia sativa* bitkilerine ait G1 piklerinin bir birine göre pozisyonları



Şekil 11. Diploid (sol) ve tetraploid (sağ) *Koeleria* bitkilerine ait mitoz kromozomlarının görünüşü

4.3. *Festuca* species

Çalışmada Doğu Anadolu Bölgesinden Toplanmış 131 *Festuca* populasyonu kullanılmış ve her populasyondan 5 bitki analiz edilmiştir. Analiz edilmiş 5 bitkinin ortalaması alınarak populasyon ortalamaları hesaplanmıştır (Tablo 3). Yapılan analiz sonuçlarına göre *Festuca* populasyonlarının ortalama çekirdek DNA içeriklerinin 4.51 pg/2C ile 15.03 pg/2C arasında değiştiği gözlenmiştir. Şekil 12 de bazı *Festuca* türleri ile standart olarak kullanılan *Vicia sativa* bitkilerine ait G1 piklerinin bir birine göre pozisyonları görülmektedir. Yapılan istatistiksel analiz sonucu populasyonların çekirdek DNA ortalamaları arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğu saptanmış ve *Festuca* populasyonlarının 9 farklı gruba ayrıldığı gözlenmiştir.

Birinci (grup A) ve ikinci grupta (grup B) yer alan 72 populasyonun ortalama çekirdek DNA içerikleri bir birine oldukça yakın olup, 4.51 pg/2C ile 4.80 pg/2C

arasında değişmektedir. Bu iki grubun ortalama çekirdek DNA içeriklerinin bir birine yakın olması grupların birbirine çok benzer genomlara sahip birden fazla türü ve onların hibritlerini içermesi yada *Festuca*'ların sahip olduğu yüksek heterojen yapı ile açıklanabilir. Yapılan sitolojik incelemelerde bu iki grupta yer alan bitkilerin $2n = 14$ kromozom sayısına sahip olduğu ve dolayısıyla diploid oldukları belirlenmiştir (Şekil 13). Yapılan taksonomik değerlendirmelerde bir populasyon hariç (F-123) bu grup içerisinde yer alan tüm populasyonlar *F. valessiaca* olarak teşhis edilmiştir. F-123 nolu populasyon *Vulpia myorus* olarak teşhis edilmiştir.

Üçüncü (grup C) ve dördüncü grupta (grup D) yer alan 27 populasyonun ortalama çekirdek DNA içerikleride önceki 2 grupta olduğu gibi bir birine oldukça yakın olup, 9.20 pg/2C ile 9.60 pg/2C arasında değişmektedir. Yapılan sitolojik incelemelerde bu iki grupta yer alan bitkilerin $2n = 28$ kromozom sayısına sahip tetraploid bitkiler oldukları belirlenmiştir (Şekil 13). Poliploidlerin diploid bitkilerden orijinlendiğini göz önünde bulundurulduğunda poliploidlerinde yüksek bir heterojen yapıya sahip olması normal bir durumdur. Yapılan taksonomik değerlendirmelerde tetraploid populasyonlar *F. chalcophaea subsp. Chalcophaea* olarak teşhis edilmiştir.

Beş, altı, yedinci ve sekizinci (Grup E, F, G, H) gruplarda yer alan toplam 14 populasyonun ortalama çekirdek DNA içerikleri de önceki gruplarda olduğu gibi bir birine oldukça yakın olup, 12.46 pg/2C ile 13.27 pg/2C arasında değişmektedir. Yapılan sitolojik incelemelerde bu gruplarda yer alan populasyonların $2n=42$ kromozom sayısına sahip hexaploid bitkiler oldukları belirlenmiştir (Şekil 13). Poliploidlerin diploid bitkilerden orijinlendiğini göz önünde bulundurulduğunda bu gruplarda yer alan poliploid populasyonlarında yüksek bir heterojen yapıya sahip olması normal bir durumdur. Yapılan taksonomik değerlendirmelerde hexaploid populasyonlar *F. heterophylla* olarak teşhis edilmiştir.

Dokuzuncu grupta (grup I) yer alan 5 populasyonun ortalama çekirdek DNA içerikleri 14.37 pg/2C ile 15.03 pg/2C arasında değişmektedir. Yapılan sitolojik incelemelerde bu grup içerisinde yer alan bitkilerin $2n=56$ kromozoma sahip octaploid bitkiler oldukları belirlenmiştir (Şekil 13). Bu grupta yer alan 2 populasyona ait bitkiler üzerinde teşhis yapılmaya çalışılmış ve F-6 nolu populasyon *F. heterophylla* olarak teşhis edilirken F-51 nolu populasyon *F. chalcophaea subsp. chalcophaea* olarak teşhis edilmiştir.

Yapılan bu çalışmada F-114 nolu populasyonun 7.36 pg/2C ortalama çekirdek DNA içeriği ile festucalardan ayrıldığı dikkati çekmiş ve bu populasyona ait bitkilerin yapılan taksonomik değerlendirmesinde bitkiler *Poa pratensis* olarak teşhis edilmiştir.

Flow sitometri metodu hassasiyet derecesi %4 civarında olan bir metottur. Bu yüzden tekrarlamalar arasındaki standart sapma değerleri oldukça düşük olup, diploidler arasında 0.1, tetraploidler arasında 0.2 ve hexaploidler ile octaploidler arasında 0.3 ten daha düşüktür. Ancak *Festuca* 9 populasyonun (F- 24, 49, 62, 73, 81, 86, 92, 113, 116) 1.1 ile 4.3 arasında değişen yüksek standart sapma değerlerine sahip olması hemen dikkat çekmiştir (Tablo 3). Yapılan daha detaylı inceleme sonucunda bu populasyonların aslında farklı ploidy düzeyine sahip türleri hatta farklı ploidy düzeyine sahip bitkilerin melezlerini çerdikleri ve dolayısıyla karışık oldukları saptanmıştır. Yapılan bu incelemelerde 49 nolu populasyondan çekirdek DNA içeriği 6.87 pg/2C olarak belirlenmiş bitkinin 2n=21 kromozoma sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 14). Bu sonuçlarda bu bitkinin diploid bir bitki ile tetraploid bir bitkinin melezlemesi sonucu meydana gelmiş bir triploid bitki olduğunu teyit etmektedir. Benzer şekilde bu tür karışık populasyonlarda 35 kromozoma sahip pentaploid bitkilerde gözlenmiştir (data burada sunulmamıştır). Bu sonuçlarda farklı ploidy düzeyine sahip *Festuca* populasyonlarının doğada birlikte bulunabildiğini, kendi aralarında kolayca melezlenebildiklerini ve dolayısıyla cinsin içerisindeki yüksek heterojenitenin nedenlerini açıkça ortaya koymaktadır.

Projeden elde edilen sonuçlar daha önce yapılmış olan çalışmalar ile benzer olduğu gözlenmiştir. Samarda ve arkadaşları (2008) 101 festuca taksonu ve 14 yakın akrabasının çekirdek DNA içeriklerini flow sitometri ile belirlemiş ve cinsin içerisinde 2C çekirdek DNA içeriğinin 3.88 pg (*F. arvensis*) ile 24.08 pg (*F. gamisansii*) arasında değiştiğini gözlemişlerdir. Ancak çalışmalarda kullanılan bitki materyallerinin aynı olmaması sebebiyle tam bir karşılaştırma yapmak mümkün olamamıştır.

Tablo 3. *Festuca* populasyonlarının piko gram olarak ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri

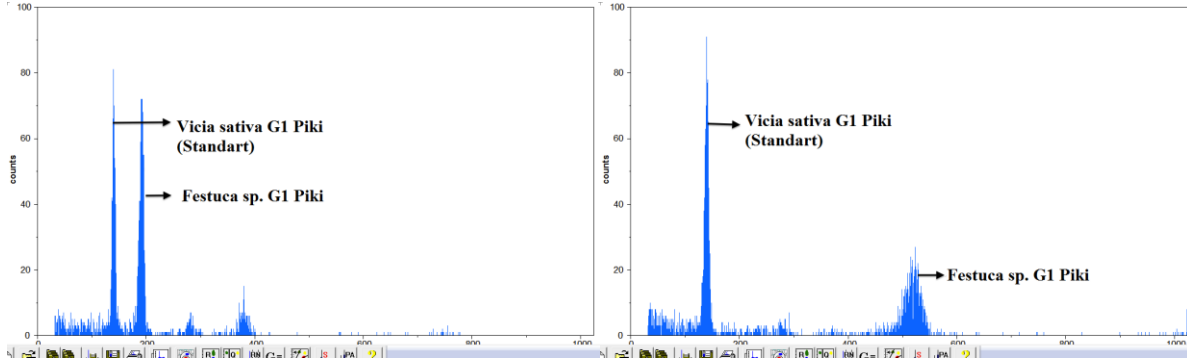
Pop. no	1.bit	2.bit	3.bit	4.bit	5.bit	Ort	SD	T*S _x	Confidence İnterv.		
									Düşük	Yüksek	
F137	4,39	4,52	4,45	4,66	4,55	4,51	0,10	0,08	4,43	4,60	A
F138	4,68	4,38	4,64	4,51	4,36	4,51	0,15	0,12	4,40	4,63	A
F36	4,50	4,53	4,51	4,57	4,48	4,52	0,03	0,03	4,49	4,55	A
F48	4,52	4,52	4,47	4,60	4,51	4,52	0,05	0,04	4,49	4,56	A
F26	4,56	4,42	4,65	4,51	4,49	4,53	0,09	0,07	4,46	4,60	A

F33	4,51	4,65	4,41	4,49	4,58	4,53	0,09	0,08	4,45	4,60	A
F127	4,59	4,55	4,57	4,52	4,41	4,53	0,07	0,06	4,47	4,59	A
F136	4,61	4,55	4,45	4,50	4,55	4,53	0,06	0,05	4,48	4,58	A
F80	4,51	4,50	4,61	4,56	4,50	4,54	0,05	0,04	4,50	4,58	A
F93	4,51	4,53	4,52	4,68	4,49	4,55	0,08	0,06	4,48	4,61	A
F139	4,53	4,52	4,68	4,49	4,51	4,55	0,08	0,06	4,48	4,61	A
F42	4,50	4,53	4,52	4,62	4,58	4,55	0,05	0,04	4,51	4,59	A
F126	4,59	4,49	4,54	4,60	4,55	4,55	0,04	0,04	4,52	4,59	A
F50	4,50	4,59	4,44	4,71	4,55	4,56	0,10	0,08	4,48	4,64	A
F118	4,55	4,59	4,49	4,54	4,62	4,56	0,05	0,04	4,52	4,60	A
F20	4,66	4,51	4,58	4,49	4,58	4,56	0,07	0,06	4,51	4,62	AB
F14	4,57	4,51	4,64	4,57	4,54	4,57	0,05	0,04	4,53	4,61	AB
F131	4,55	4,48	4,51	4,75	4,54	4,57	0,11	0,09	4,48	4,65	AB
F104	4,48	4,62	4,65	4,55	4,54	4,57	0,07	0,06	4,51	4,62	AB
F45	4,61	4,55	4,67	4,44	4,58	4,57	0,09	0,07	4,50	4,64	AB
F67	4,55	4,53	4,74	4,49	4,54	4,57	0,10	0,08	4,49	4,65	AB
F66	4,54	4,63	4,53	4,60	4,58	4,58	0,04	0,03	4,54	4,61	AB
F32	4,49	4,58	4,54	4,72	4,56	4,58	0,09	0,07	4,51	4,65	AB
F54	4,51	4,68	4,51	4,48	4,71	4,58	0,11	0,09	4,49	4,67	AB
F128	4,62	4,56	4,50	4,62	4,59	4,58	0,05	0,04	4,54	4,62	AB
F63	4,55	4,62	4,59	4,63	4,51	4,58	0,05	0,04	4,54	4,62	AB
F123	4,65	4,53	4,51	4,59	4,62	4,58	0,06	0,05	4,53	4,63	AB
F60	4,53	4,58	4,68	4,57	4,56	4,58	0,06	0,05	4,54	4,63	AB
F76	4,52	4,65	4,58	4,64	4,53	4,58	0,06	0,05	4,54	4,63	AB
F120	4,70	4,47	4,58	4,57	4,60	4,58	0,08	0,07	4,52	4,65	AB
F40	4,56	4,62	4,59	4,67	4,51	4,59	0,06	0,05	4,54	4,64	AB
F1	4,63	4,58	4,63	4,50	4,61	4,59	0,05	0,04	4,55	4,63	AB
F22	4,68	4,54	4,62	4,50	4,61	4,59	0,07	0,06	4,53	4,65	AB
F57	4,51	4,67	4,59	4,54	4,64	4,59	0,07	0,06	4,54	4,65	AB
F70	4,51	4,60	4,56	4,65	4,63	4,59	0,06	0,05	4,54	4,64	AB
F119	4,61	4,58	4,59	4,60	4,57	4,59	0,02	0,01	4,58	4,60	AB
F11	4,53	4,60	4,69	4,58	4,56	4,59	0,06	0,05	4,54	4,64	AB
F17	4,57	4,62	4,59	4,58	4,60	4,59	0,02	0,02	4,58	4,61	AB
F31	4,63	4,66	4,55	4,48	4,64	4,59	0,08	0,06	4,53	4,65	AB
F83	4,54	4,62	4,58	4,65	4,57	4,59	0,04	0,04	4,56	4,63	AB
F140	4,59	4,68	4,57	4,55	4,57	4,59	0,05	0,04	4,55	4,63	AB
F16	4,57	4,60	4,65	4,56	4,59	4,59	0,04	0,03	4,57	4,62	AB
F41	4,58	4,61	4,64	4,54	4,60	4,59	0,04	0,03	4,56	4,62	AB
F4	4,53	4,67	4,65	4,54	4,60	4,60	0,06	0,05	4,55	4,65	AB
F130	4,54	4,52	4,53	4,78	4,62	4,60	0,11	0,09	4,51	4,69	AB
F88	4,58	4,61	4,59	4,68	4,55	4,60	0,05	0,04	4,56	4,64	AB

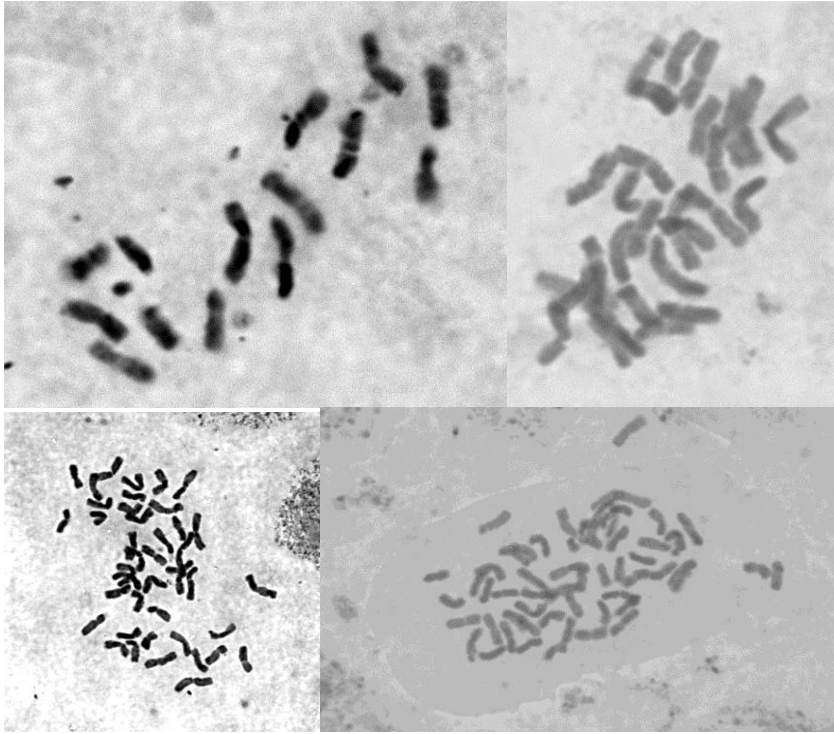
F59	4,61	4,54	4,58	4,69	4,61	4,61	0,06	0,05	4,56	4,65	AB
F105	4,72	4,59	4,65	4,51	4,58	4,61	0,08	0,07	4,55	4,68	AB
F94	4,50	4,62	4,56	4,71	4,66	4,61	0,08	0,07	4,54	4,68	AB
F12	4,59	4,59	4,65	4,64	4,59	4,61	0,03	0,03	4,59	4,64	AB
F101	4,64	4,51	4,57	4,71	4,63	4,61	0,08	0,06	4,55	4,67	AB
F8	4,54	4,58	4,56	4,62	4,77	4,61	0,09	0,08	4,54	4,69	AB
F10	4,57	4,60	4,70	4,61	4,59	4,61	0,05	0,04	4,57	4,66	AB
F132	4,59	4,56	4,57	4,78	4,57	4,61	0,09	0,08	4,54	4,69	AB
F47	4,55	4,57	4,56	4,78	4,63	4,62	0,10	0,08	4,54	4,70	AB
F78	4,60	4,56	4,79	4,62	4,58	4,63	0,09	0,08	4,56	4,71	AB
F100	4,70	4,66	4,65	4,47	4,68	4,63	0,08	0,07	4,56	4,70	AB
F117	4,56	4,68	4,73	4,58	4,62	4,63	0,07	0,06	4,58	4,69	AB
F91	4,57	4,74	4,66	4,65	4,59	4,64	0,07	0,06	4,59	4,70	AB
F39	4,57	4,64	4,61	4,72	4,68	4,64	0,06	0,05	4,60	4,69	AB
F56	4,60	4,59	4,60	4,78	4,67	4,65	0,08	0,07	4,58	4,71	AB
F95	4,66	4,71	4,69	4,58	4,62	4,65	0,05	0,04	4,61	4,70	B
F84	4,64	4,62	4,68	4,71	4,63	4,66	0,04	0,03	4,63	4,69	B
F18	4,68	4,67	4,69	4,57	4,67	4,66	0,05	0,04	4,62	4,70	B
F38	4,64	4,69	4,67	4,74	4,54	4,66	0,07	0,06	4,60	4,72	B
F19	4,65	4,67	4,66	4,72	4,70	4,68	0,03	0,02	4,66	4,70	B
F46	4,70	4,61	4,80	4,71	4,65	4,69	0,07	0,06	4,64	4,75	B
F115	4,70	4,74	4,64	4,71	4,72	4,70	0,04	0,03	4,67	4,73	B
F112	4,67	4,74	4,81	4,61	4,70	4,71	0,08	0,06	4,65	4,77	B
F97	4,68	4,75	4,72	4,71	4,69	4,71	0,03	0,02	4,69	4,73	B
F99	4,55	4,93	4,74	4,71	4,70	4,73	0,14	0,11	4,62	4,84	B
F37	4,96	4,64	4,76	4,82	4,80	4,80	0,12	0,09	4,70	4,89	B
F49	4,47	6,87	4,67	4,59	4,59	5,04	1,03	0,84	4,20	5,88	Kar
F92	6,85	4,62	4,57	4,62	4,59	5,05	1,01	0,82	4,23	5,87	Kar
F113	4,59	6,96	4,60	4,52	4,58	5,05	1,07	0,87	4,18	5,92	Kar
F81	5,40	5,61	5,51	5,77	5,55	5,57	0,14	0,11	5,46	5,68	Kar
F44	4,54	9,73	9,69	4,56	4,51	6,61	2,83	2,32	4,29	8,92	Kar
F114	7,38	7,28	7,33	7,40	7,39	7,36	0,05	0,04	7,32	7,40	T. D.
F62	9,05	9,43	9,24	4,70	4,55	7,39	2,53	2,07	5,32	9,46	Kar
F24	9,55	4,41	9,50	9,40	4,65	7,50	2,72	2,22	5,28	9,72	Kar
F73	4,50	4,55	4,53	12,48	12,39	7,69	4,33	3,54	4,15	11,23	Kar
F116	9,30	4,56	6,93	9,47	9,28	7,91	2,15	1,76	6,15	9,66	Kar
F27	8,98	9,27	9,08	9,43	9,24	9,20	0,18	0,14	9,06	9,34	C
F13	9,21	9,44	9,11	9,28	9,32	9,27	0,12	0,10	9,17	9,37	C
F61	9,11	9,40	9,26	9,24	9,37	9,28	0,12	0,09	9,18	9,37	C
F69	9,06	9,20	9,63	9,40	9,13	9,28	0,23	0,19	9,10	9,47	C
F25	9,25	9,37	9,28	9,34	9,31	9,31	0,05	0,04	9,27	9,35	C

F133	9,23	9,34	9,29	9,32	9,40	9,32	0,06	0,05	9,27	9,37	C
F129	9,28	9,38	9,41	9,26	9,26	9,32	0,07	0,06	9,26	9,38	C
F30	9,28	9,45	9,37	9,35	9,42	9,37	0,07	0,05	9,32	9,43	C
F43	9,29	9,32	9,56	9,40	9,30	9,37	0,11	0,09	9,28	9,47	C
F71	9,62	8,93	9,62	9,44	9,27	9,38	0,29	0,24	9,14	9,61	CD
F64	9,22	9,63	9,20	9,41	9,42	9,38	0,18	0,14	9,23	9,52	CD
F5	9,42	9,36	9,47	9,40	9,39	9,41	0,04	0,03	9,34	9,44	CD
F9	9,71	9,15	9,43	9,37	9,40	9,41	0,20	0,16	9,25	9,58	CD
F85	9,29	9,34	9,32	9,63	9,50	9,42	0,15	0,12	9,30	9,53	CD
F58	9,29	9,58	9,44	9,39	9,41	9,42	0,11	0,09	9,34	9,51	CD
F34	9,21	9,54	9,69	9,50	9,58	9,50	0,18	0,15	9,34	9,65	CD
F82	9,52	9,48	9,50	9,47	9,55	9,50	0,03	0,03	9,48	9,53	D
F65	9,41	9,67	9,43	9,50	9,54	9,51	0,10	0,09	9,43	9,60	D
F79	9,45	9,55	9,50	9,58	9,47	9,51	0,05	0,04	9,47	9,55	D
F110	9,72	9,38	9,43	9,55	9,47	9,51	0,13	0,11	9,40	9,62	D
F106	9,70	9,24	9,47	9,63	9,57	9,52	0,18	0,15	9,38	9,67	D
F74	9,36	9,51	9,44	9,74	9,59	9,53	0,15	0,12	9,41	9,65	D
F90	9,71	9,39	9,55	9,43	9,60	9,54	0,13	0,11	9,43	9,64	D
F35	9,19	9,67	9,85	9,70	9,43	9,57	0,26	0,21	9,36	9,78	D
F96	9,49	9,63	9,56	9,74	9,51	9,59	0,10	0,08	9,50	9,67	D
F29	9,99	9,37	9,58	9,43	9,68	9,61	0,25	0,20	9,41	9,81	D
F52	9,78	9,58	9,52	9,49	9,68	9,61	0,12	0,10	9,51	9,71	D
F86	12,93	9,64	11,29	12,47	12,61	11,79	1,35	1,11	10,68	12,89	Kar
F102	12,26	12,61	12,44	12,52	12,48	12,46	0,13	0,11	12,36	12,57	E
F122	13,08	12,41	12,74	12,53	12,43	12,64	0,28	0,23	12,41	12,87	EF
F125	12,86	12,64	12,75	12,66	12,71	12,72	0,09	0,07	12,65	12,80	F
F55	12,88	12,77	12,82	12,59	12,70	12,75	0,11	0,09	12,66	12,84	F
F7	12,61	13,28	12,94	12,74	12,88	12,89	0,25	0,21	12,68	13,10	G
F53	12,76	12,92	12,84	13,04	12,94	12,90	0,11	0,09	12,81	12,99	G
F72	13,12	12,90	13,01	12,93	12,88	12,97	0,10	0,08	12,89	13,05	G
F121	12,73	13,23	12,98	12,88	13,02	12,97	0,18	0,15	12,82	13,12	G
F21	12,74	13,27	13,01	12,98	12,90	12,98	0,19	0,16	12,82	13,14	GH
F89	12,78	13,22	13,00	12,93	13,22	13,03	0,19	0,16	12,87	13,19	GH
F28	13,06	13,30	12,86	12,97	13,18	13,07	0,17	0,14	12,93	13,22	GH
F68	13,02	13,40	13,00	13,21	12,99	13,12	0,18	0,15	12,98	13,27	GH
F15	13,12	13,29	13,30	13,21	13,19	13,22	0,08	0,06	13,16	13,28	GH
F23	12,99	13,52	13,30	13,28	13,25	13,27	0,19	0,15	13,12	13,42	H
F124	14,30	14,87	14,59	14,42	13,69	14,37	0,44	0,36	14,02	14,73	I
F6	13,95	14,77	14,42	14,49	14,36	14,40	0,30	0,24	14,16	14,64	I
F111	14,49	14,47	14,40	14,53	14,46	14,47	0,05	0,04	14,43	14,51	I
F3	13,95	14,83	14,71	14,59	14,40	14,50	0,34	0,28	14,22	14,78	I

F51	14,76	15,75	15,26	14,59	14,78	15,03	0,47	0,39	14,64	15,42	I
-----	-------	-------	-------	-------	-------	--------------	------	------	-------	-------	---



Şekil 12. Diploid (sol) ve octaploid (sağ) *Festuca* bitkileri ile standart olarak kullanılan *Vicia sativa* bitkilerine G1 piklerinin bir birine göre pozisyonları



Şekil 13. Diploid (üst sol, $2n=14$), tetraploid (üst sağ, $2n=28$), hexaploid (alt sol, $2n=42$), ve octaploid (alt sağ, $2n=56$) *Festuca* bitkilerine ait mitoz kromozomlarının görünüşü



Şekil 14. Triploid ($2n=21$) *Festuca* bitkisine ait mitoz kromozomlarının görünüşü

4.4. *Phleum* species

Çalışmada Doğu Anadolu Bölgesinden Toplanmış 46 *Phleum* populasyonu kullanılmış ve her populasyondan 5 bitki analiz edilmiştir. Analiz edilmiş 5 bitkinin ortalaması alınarak populasyon ortalamaları hesaplanmıştır (Tablo 4). Yapılan analiz sonuçlarına göre *Phleum* populasyonlarının ortalama çekirdek DNA içeriklerinin 6.56 pg/2C ile 9.64 pg/2C arasında değiştiği gözlenmiştir. Şekil 15 de bazı *Phleum* türleri ile standart olarak kullanılan *Zea mays* bitkilerine ait G1 piklerinin bir birine göre pozisyonları görülmektedir. Yapılan istatistiksel analiz sonucu populasyonların çekirdek DNA ortalamaları arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğu saptanmış ve *Phleum* populasyonlarının 3 farklı gruba ayrıldığı gözlenmiştir.

Birinci grupta (grup A) ortalama çekirdek DNA içeriği 6.56 pg/2C ile 6.76 pg/2C olan 9 populasyon yer almaktadır. İkinci grupta (grup B) ortalama çekirdek DNA içeriği 7.59 pg/2C ile 7.94 pg/2C olan 16 populasyon yer almaktadır. Üçüncü grupta ortalama çekirdek DNA içeriği 9.04 pg/2C ile 9.64 pg/2C olan 15 populasyon yer almaktadır. Yapılan kromozom sayımlarında 1. gruptaki bitkilerin $2n=28$ kromozoma sahip dolayısıyla tetraploid oldukları 2. ve 3. gruptaki bitkilerin ise $2n=42$ kromozoma sahip dolayısıyla hexaploid olduğu belirlenmiştir (Şekil 16). Yapılan taksonomik değerlendirmelerde A grubunda yer alan populasyonların arasında *Phleum bertolonii* DC (P-2) ve *Phleum phleoides* (P-45) olarak teşhis edilmişlerdir. P-43 nolu populasyon hariç B ve C grubundaki tüm populasyonlar *Phleum pratense* L. olarak teşhis edilmişlerdir.

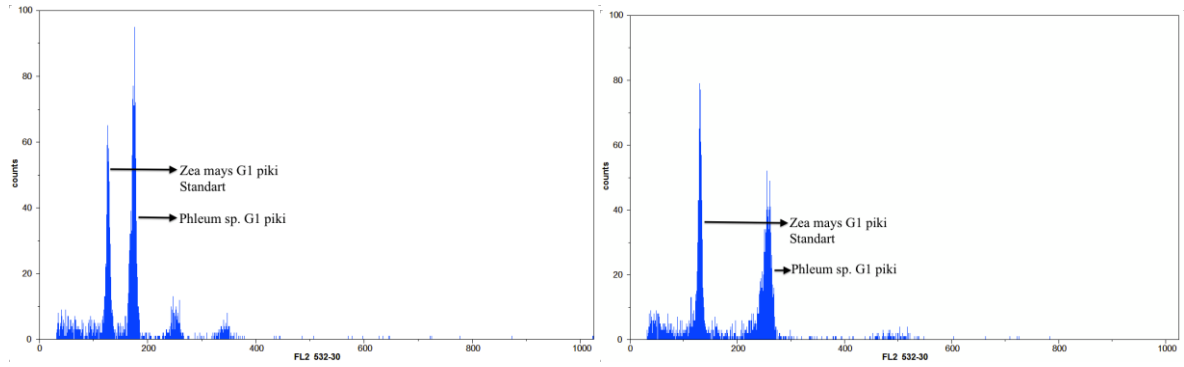
Phleum cinsi içerisinde yer alan türlere üzerinde yapılan bir çalışmada Kaliforniyadan elde edilmiş olan *Phleum commutatum* ile Avrupadan elde edilen *Phleum commutatum* ve *Phleum rhaeticum*' un çekirdek DNA içeriği saptanmıştır. Yapılan bu çalışmada tetraploid türlerin 2C çekirdek DNA içerikleri 6.2 pg olarak belirlenirken 2C çekirdek DNA içeriğinin diploidler arasında 2.4 pg ile 2.9 pg arasında

değiştirdiği gözlenmiştir (Kula ve ark., 2006). Çalışmamızda diploid türlere rastlanılmamış iken teşhis edilen tetraploid türlerin çekirdek DNA içeriklerinin Kula ve ark. (2006) sonuçları ile oldukça benzer olduğu görülmektedir. Aradaki farklılıklarında türler arasındaki farklılıklar ile kullanılan standart bitkiden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

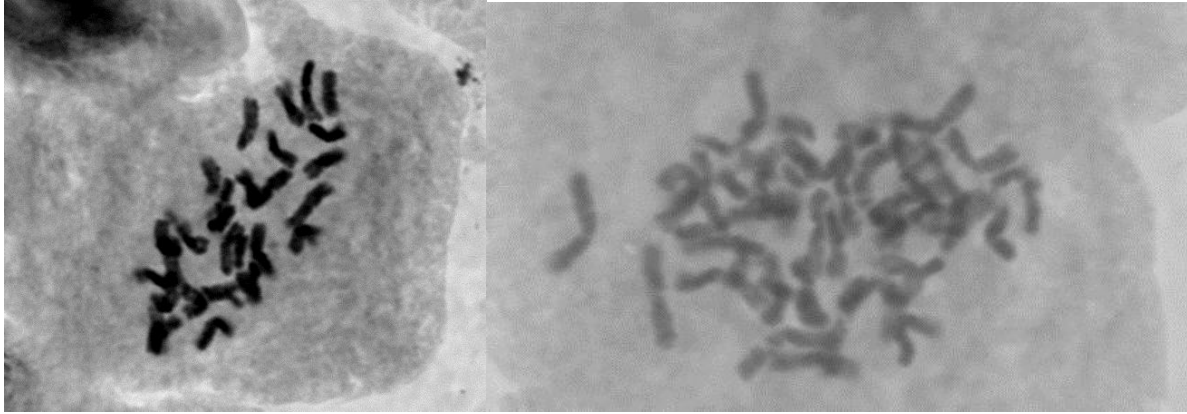
Tablo 4. *Phleum* populasyonlarının piko gram olarak ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri

Pop. no	1.bit	2.bit	3.bit	4.bit	5.bit	Ort	SD	T*S _x	Confidence Interv.		
									Düşük	Yüksek	
P36	6,61	6,41	6,27	6,55	6,96	6,56	0,26	0,21	6,35	6,77	A
P35	6,69	6,38	6,23	6,57	6,96	6,57	0,28	0,23	6,34	6,80	A
P5	6,75	6,66	6,05	6,85	6,64	6,59	0,31	0,26	6,33	6,85	A
P45	6,72	6,46	6,25	6,61	6,99	6,61	0,28	0,23	6,38	6,83	A
P37	6,82	6,36	6,36	6,58	7,03	6,63	0,29	0,24	6,39	6,87	A
P10	6,68	6,74	6,35	6,87	6,57	6,64	0,20	0,16	6,48	6,80	A
P4	6,70	6,75	6,34	6,89	6,60	6,66	0,21	0,17	6,49	6,82	A
P2	6,73	6,68	6,40	6,85	6,75	6,68	0,17	0,14	6,54	6,82	A
P17	6,80	6,33	6,64	6,77	7,24	6,76	0,33	0,27	6,49	7,03	A
P46	6,74	6,37	6,23	8,09	6,60	6,81	0,75	0,61	6,20	7,42	Kar
P14	8,29	6,43	6,41	6,84	7,06	7,01	0,77	0,63	6,38	7,64	Kar
P12	6,72	8,13	6,37	6,73	7,16	7,02	0,68	0,56	6,47	7,58	Kar
P47	6,81	6,33	7,68	8,15	6,56	7,11	0,78	0,63	6,47	7,74	Kar
P27	6,22	7,39	7,51	8,10	8,14	7,47	0,78	0,64	6,84	8,11	Kar
P33	7,91	7,20	7,33	7,96	7,56	7,59	0,34	0,28	7,32	7,87	B
P29	7,86	7,53	7,45	7,64	7,66	7,63	0,16	0,13	7,50	7,76	B
P1	7,56	7,77	7,46	7,96	7,65	7,68	0,19	0,16	7,52	7,84	B
P22	7,88	7,45	7,08	8,14	7,85	7,68	0,42	0,34	7,34	8,02	B
P31	7,95	7,34	7,48	8,04	7,66	7,69	0,30	0,24	7,45	7,94	B
P44	8,01	7,54	7,49	7,74	7,76	7,71	0,21	0,17	7,54	7,88	B
P42	7,78	7,51	7,51	7,63	8,12	7,71	0,26	0,21	7,50	7,92	B
P18	7,94	7,48	7,30	7,69	8,25	7,73	0,38	0,31	7,43	8,04	B
P24	7,87	7,52	7,31	7,70	8,32	7,74	0,38	0,31	7,43	8,06	B
P28	7,85	7,55	7,44	7,95	8,21	7,80	0,31	0,25	7,55	8,05	B
P34	8,10	7,48	7,38	7,91	8,16	7,81	0,36	0,29	7,51	8,10	B
P26	8,00	7,63	7,46	7,90	8,21	7,84	0,30	0,24	7,60	8,08	B
P30	7,68	7,53	7,35	8,24	8,52	7,86	0,50	0,41	7,46	8,27	B
P21	8,01	7,47	7,25	8,43	8,31	7,89	0,52	0,42	7,47	8,32	B
P11	7,80	7,99	7,51	8,05	8,29	7,93	0,29	0,24	7,69	8,17	B
P6	7,98	7,99	7,54	7,87	8,32	7,94	0,28	0,23	7,71	8,17	B
P25	8,36	7,72	7,68	9,78	8,83	8,47	0,87	0,71	7,76	9,19	Kar

P16	8,25	7,44	9,35	8,33	10,07	8,69	1,03	0,84	7,85	9,53	Kar
P3	9,86	9,59	8,45	8,14	9,18	9,04	0,73	0,60	8,44	9,64	C
P19	8,00	9,23	9,49	9,10	10,06	9,18	0,75	0,62	8,56	9,79	C
P15	7,97	9,05	9,25	9,66	10,20	9,23	0,83	0,68	8,55	9,90	C
P13	9,85	8,08	9,02	10,04	9,71	9,34	0,80	0,66	8,68	10,00	C
P41	9,69	8,88	9,09	9,67	9,53	9,37	0,37	0,30	9,07	9,67	C
P39	9,65	9,06	9,12	9,58	9,57	9,40	0,28	0,23	9,17	9,63	C
P20	9,79	9,23	8,96	9,74	10,03	9,55	0,44	0,36	9,19	9,91	C
P40	9,86	9,00	9,71	9,75	9,50	9,56	0,34	0,28	9,29	9,84	C
P32	9,81	9,24	9,26	10,05	9,57	9,59	0,35	0,29	9,30	9,87	C
P38	9,72	9,34	9,80	9,49	9,65	9,60	0,19	0,15	9,45	9,75	C
P43	9,93	9,30	9,30	9,54	9,97	9,61	0,33	0,27	9,34	9,88	C
P23	9,81	9,28	9,04	9,96	9,97	9,61	0,43	0,35	9,26	9,96	C
P8	9,66	9,80	9,42	9,67	9,52	9,61	0,15	0,12	9,49	9,73	C
P7	9,71	9,62	9,08	9,76	10,02	9,64	0,35	0,28	9,36	9,92	C
P9	9,87	9,89	9,30	9,58	9,58	9,64	0,24	0,20	9,44	9,84	C



Şekil 15. Tetraploid (sol) ve Hexaploid (sağ) *Phleum* bitkileri ile standart olarak kullanılan *Zea mays* bitkilerine ait G1 piklerinin bir birine göre pozisyonları



Şekil 16. Tetraploid (sol, $2n=28$), Hexaploid (sağ, $2n=42$), *Phleum* bitkilerine ait mitoz kromozomlarının görünüşü

Tablo 5. Teşhis edilen populasyonlar

<i>Phleum</i>	
P001	<i>Phleum pratense</i> L.
P002	<i>Phleum bertolonii</i> DC.
P006	<i>Phleum pratense</i> L.
P011	<i>Phleum pratense</i> L.
P018	<i>Phleum pratense</i> L.
P021	<i>Phleum pratense</i> L.
P022	<i>Phleum pratense</i> L.
P024	<i>Phleum pratense</i> L.
P026	<i>Phleum pratense</i> L. veya <i>Phleum bertolonii</i> DC.
P027	<i>Phleum pratense</i> L.
P028	<i>Phleum pratense</i> L.
P029	<i>Phleum pratense</i> L.
P030	<i>Phleum pratense</i> L.
P031	<i>Phleum pratense</i> L.
P033	<i>Phleum pratense</i> L.
P034	<i>Phleum pratense</i>
P038	<i>Phleum pratense</i>
P039	<i>Phleum pratense</i>
P040	<i>Phleum pratense</i>
P042	<i>Phleum pratense</i> L.
P043	<i>Phleum montanum</i> subsp <i>montanum</i> L.
P044	<i>Phleum pratense</i> L.
P045	<i>Phleum phleoides</i> ($2n=14$ $2n=28$)
Agropyron	
A048	<i>Agropyron cristatum</i> (L.) GAERTNER subsp. <i>pectinatum</i> (BIEB.) TZVELEV var. <i>pectinatum</i> (L.) GAERTNER
Festuca	
F-1	<i>F. valesiaca</i>
F-6	<i>F. heterophylla</i>
F-7	<i>F. heterophylla</i>

F-8	<i>F. valesiaca</i>
F-9	Bakılması gerekir a ?
F10	<i>F. valesiaca</i>
F11	<i>F. valesiaca</i>
F12/1	<i>F. valesiaca</i>
F-13	<i>Festuca chalcophaea subsp. chalcophaea</i>
F-14	<i>F. valesiaca</i>
F-15	<i>F. heterophylla</i>
F-16	<i>F. valesiaca</i>
F-17	<i>F. valesiaca</i>
F-18	<i>F. valesiaca</i>
F-19	<i>F. valesiaca</i>
F-20	<i>F. valesiaca</i>
F-21	<i>F. heterophylla</i>
F-22	<i>F. valesiaca</i>
F-23	<i>F. heterophylla</i>
F-24/3	<i>F. woronowii subsp. caucasica A</i> ???(Karışık populasyon)
F-25	<i>F. chalcophaea subsp. chalcophaea</i>
F-26	<i>F. valesiaca</i>
F-27	<i>F. chalcophaea subsp. chalcophaea</i>
F-28	<i>F. heterophylla</i>
F-29/1	<i>F.valesiaca</i> or ??????
F-30	<i>F. chalcophaea subsp. chalcophaea</i>
F-31	<i>F. valesiaca</i>
F-32	<i>F. valesiaca</i>
F-33	<i>F. valesiaca</i>
F-35/1	<i>F. valesiaca</i>
F-36	<i>F. valesiaca</i>
F-37	<i>F. valesiaca</i>
F-38	<i>F. valesiaca</i>
F-39	9 pikogramlık olanlara benziyor
F-40	<i>F. valesiaca</i>
F-41	<i>F. valesiaca</i>
F-42	<i>F. valesiaca</i>
F-44	<i>F. valesiaca</i>
F-45	<i>F. valesiaca</i>
F-46	<i>F. valesiaca</i>
F-47	<i>F. valesiaca</i>
F-51/2	<i>F. chalcophaea subsp. chalcophaea ?</i>
F-52	<i>F. chalcophaea subsp. chalcophaea</i>
F-60	Karışık populasyon
F-71/2	<i>F. valesiaca</i>
F-74	<i>F. chalcophaea subsp. chalcophaea</i>
F-76	<i>F. valesiaca</i>
F-83	<i>F. valesiaca</i>
F-86	<i>F. heterophylla</i>

F-89	<i>F. heterophylla</i>
F-114/2	<i>Poa pratensis</i>
F-123/1	<i>Vulpia myuros</i>
Koeleria	
K19	<i>Koeleria nitidula</i>
K1	<i>Koeleria cristata</i>
K3	<i>Koeleria cristata</i>

Tablo 6. *Koeleria* taksonları arasındaki morfolojik farklılıklar

Takson	Form	Gövde Boyu	Gluma (Dış kavuz)	Panikula
<i>Koeleria nitidula</i> Velen., Fl.	Gevşek küme oluşturan	15-70 cm	Glumalar hemen hemen eşit ve üst gluma en alttaki lemmaya hemen hemen eşit	2.5-10 x 0.7-1.5 cm
<i>Koeleria cristata</i> (L.) Pers.	Yoğun küme oluşturan	8-40(-65) cm	Glumalar eşit değil ve üst gluma en alttaki lemmadan daha küçük	3.5-9(-14) x 0.5-2(4.3) cm

Tablo 7. *Festuca* taksonları arasındaki morfolojik farklılıklar

Takson	Form	Gövde	Panikula	Spikulalar
<i>F. valesiaca</i> L.	Yoğun küme oluşturan	25-40(-50) cm	Panikula 3-7 (-10) cm, aralıklı, anthesis döneminde başakçıkları tutan dallar ana eksene dik	Spikulalar linear oblong; (5,5-) 5,8-6.9 mm ; pruinose
<i>F. heterophylla</i>	Yoğun küme oluşturan	60-120 cm	Panikula 6-17 cm anthesis döneminde başakçıkları tutan dallar	Spikulalar 8-11,5 mm; (3) 4-6 çiçekçikli

			ana eksene dik	
<i>F. chalcophaea</i> <i>subsp. chalcophaea</i>	Yoğun küme oluşturan	15-50 cm	Panikula 3-8 cm bazen aralıklı.	Spikulalar oblong-obovate (6-) 6,5-8 mm

Tablo 8. *Phleum* taksonları arasındaki morfolojik farklılıklar

Takson	Form	Gövde	Panikula	Spikulalar
<i>Phleum pratense</i> L.	Genişten sık dönen kümeler	9-85(-130) cm	Panikulanın dalları ana eksene yapışık; panikula 6-10 mm genişliğinde	Spikulalar 3.5-4 mm ; glumaların aristat uçları 1-1.7 mm
<i>Phleum bertolonii</i> DC.	Küme şeklinde	15-70 cm	Panikulanın dalları ana eksene yapışık; panikula 3-5 mm genişliğinde	Spikulalar 2-2,7 mm ; glumaların aristat uçları 0,2-0.5 mm
<i>Phleum montanum</i> C. Kroch subsp. <i>montanum</i> C. Kroch	Sık kümeler	12-85(-90) cm	Panikulanın dalları ana eksene yapışık değil; Panikula 6-12 mm gen.	Spikulalar 3-4 mm
<i>Phleum phleoides</i> (L.) Karsten	Sık Kümeler	14-85 cm	Panikulanın dalları ana eksene yapışık değil; Panikula 4-7 mm gen.	Spikulalar 2-3,5 mm

5. SONUÇ

Tamamlamış olan bu araştırma projesinin amacı ıslah programlarında kullanmak için Doğu Anadolu Bölgesi doğal florasından toplanmış 210 buğdaygil yem bitkisi populasyonunu karakterize etmektir. Yapılan çalışmada flow sitometri yöntemiyle populasyonların çekirdek DNA içerikleri belirlenmiş ve türlerin teşhisi ile ploidy düzeylerinin belirlenmesinde kullanılmıştır.

Yapılan bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre ıslah programlarında değerlendirmek amacıyla doğal vegetasyonlardan toplanan buğdaygil yem bitkisi populasyonlarının farklı tür ve ploidy düzeyine sahip bitkileri içerebileceği ve bu yüzden ıslah programlarına dahil edilmeden önce muhakkak tanımlanmalarının gerekli olduğu açıkça ortaya çıkmıştır. Buna ilave olarak flow sitometri yönteminin bu amaçla kullanıma ve özellikle morfolojik olarak bir birine çok benzeyen ve doğada birlikte yetişen yem bitkilerinin teşhisinde ve ploidy düzeylerinin belirlenmesinde son derece yararlı olduğu ve bu nedenle benzer çalışmalarda en güvenilir, hassas, kolay ve hızlı bir metot olarak kullanılabilceği bir kez daha ortaya konmuştur.

6. KAYNAKLAR

Açıkgöz, E., 2001. Yem Bitkileri. Yenilenmiş 3. Baskı. Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı Yayın No: 82.

Aiken S. G., Consaul L. L. (1995) Leaf cross sections and phytogeography: a potent combination for identifying members of *Festuca* subgg. *Festuca* and *Leucopoa* (Poaceae), occurring in North America. *Amer. J. Bot.* 82: 1287–1299.

Alexeev E. B. (1980) *Festuca* L. Subgenera et sectiones novae ex America boreali et Mexica. *Novosti Sistematiği Nizshikh Rastenii* 17: 42–53.

Altın, M., A. S. Tekeli, İ. Nizam, 2009. *Ayrıklar (Agropyron spp.)*. Yembitkileri. *Buğdaygil ve Diğer Familyalardan Yembitkileri Cilt III*, s: 573-592. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Üretim ve Geliştirme Genel Müdürlüğü, Emre Basımevi, İzmir.

Arumuganathan, K. and E. D. Earle. 1991. Estimation of nuclear DNA content of plants by flow cytometry. *Plant Molecular Biology Reporter*. 9:229-241.

Arumuganathan, K., S. P. Tallury, M. L. Fraser, A. H. Bruneau, and R. Qu. 1999. Nuclear DNA content of Thirteen turfgrass species by flow cytometry. *Crop sci.* 39:1518-1521.

Bennett, M. D. And J. B. Smith. 1976. Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 274:227-276.

Bennett, M. D. and I. J. Leitch. 1995. Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Ann. Bot. (London)* 76:113-176.

Bennett, M. D., P. Bhandol, and I. J. Leitch. 2000. Nuclear DNA amounts in angiosperms and their modern uses-807 new estimates. *Ann. Bot. (London)* 86:859-909.

Bennett, M. D. and I. J. Leitch. 2004. Angiosperm DNA C-values database <http://www.rbqkew.org.uk/cval/homepage.html>

Brummer, E. C., P. M. Cazarro, and D. Luth. 1999. Ploidy determination of alfalfa germplasm accessions using flow cytometry. *Crop sci.* 39:1202-1207.

Cabi E. (2010). Taxonomic Revision of Tribe Triticeae Dumortier (Poaceae) in Turkey (Doctoral dissertation). Retrieved from <http://etd.lib.metu.edu.tr/upload/12612862/index.pdf>. METU. Ankara

Cabi E., Doğan M (2012). *Festuca*. ed. Güner A. ve ark. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler) Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul.

Cabi E., Doğan M (2012c). *Koeleria*. ed. Güner A. ve ark. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler) Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul.

Cabi E., Doğan M (2012b). *Phleum*. ed. Güner A. ve ark. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler) Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul.

Clayton, W.D., Renvoize, S.A., (1986). *Genera Graminum: Grasses of the World*, Kew Bull. Addit. series XIII, Royal Botanic Gardens, Kew.

Ceccarelli, M., E. Falistocco, and P. G. Cionini. 1992. Variation of genome size and organization within hexaploid *Festuca arundinacea*. *Theor Appl Genet.* 83:273-278.

Cerbah, M., E. Mortreau, S. Brown, S. Sijak-yakovlev, H. Bertrand, C. Lambert. 2001. Genome size variation and species relationships in the genus *Hydrangea*. *Theor Appl Genet.* 103:45-51.

Chooi, W. Y. 1971. Variation in nuclear DNA content in the genus *Vicia*. *Genetics.* 68:195-211.

Davis PH. 1985. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. – Pp:?.? in Davis PH (ed.) , Flora of Turkey and the East Aegean Islands 9. - Edinburgh: Edinburgh University.

Davis PH. & Heywood VH. 1973. Principles of angiosperm taxonomy. – Pp:?.? in Davis PH. & Heywood VH (ed), Principles of angiosperm taxonomy - Huntington, New York: Robert E. Kieger Publishing Company.

Dewey DR. 1983. Historical and current taxonomic perspectives of *Agropyron*, *Elymus*, and related genera. *Crop Science* 23:637–642.

Dewey DR & Pendse PC. 1967. Cytogenetics of crested wheatgrass triploids. *Crop Science* 7:345–349.

Doğan M. 1985. Phleum L. In: Davis PH (ed.) Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 9, pp. 388–397. Edinburgh Univ. Press., Edinburgh.

Hackel E. 1882. Monographia Festucarum Europearum. Kassel, Berlin, T. Fischer.

Hatipoğlu, R., İ. Atış, 2009. Kelpkuyruğu (*Phleum* sp. L.). Yembitkileri. Buğdaygil ve Diğer Familyalardan Yembitkileri Cilt III, s: 638-641. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Üretim ve Geliştirme Genel Müdürlüğü, Emre Basımevi, İzmir.

Heslop-Harrison, J. S. 1995. Flow cytometry and genome analysis. *Probe* 5:14-17.

Huff, D. R. and A. J. Palazzo. 1998. Fine fescue species determination by laser flow cytometer. *Crop Sci.* 38: 2, p. 445-45

Hultquist, S. J., K. P. Vogel, D. J. Lee, K. Arumuganathan and S. Kaepler. 1997. DNA content and chloroplast DNA polymorphisms among accessions of switchgrass from remnant Midwestern prairies. *Crop Sci.* 37:595-98.

Jensen KB, Larson SR, Waldron BL & Asay KH. (2006). Cytogenetic and molecular characterization of hybrids between 6x, 4x, and 2x ploidy levels in crested wheatgrass. *Crop Science* 46:105–112.

Johnson, P. G, T. P. Riordan, and K. Arumuganathan. 1998. Ploidy level determinations in buffalograss clones and populations. *Crop sci.* 38:478-482.

Johnson, P. G, K. E. Kenworthy, D. L. Auld, and T. P. Riordan. 2001. Distribution of buffalograss polyploid variation in the southern great plains. *Crop sci.* 41:909-913.

Karadağ, Y., N. Şahin, R. Avcıoğlu, 2009. Sorguçlu Gümüştotu (*Koeleria cristata* (L)Pers.). Yembitkileri. Buğdaygil ve Diğer Familyalardan Yembitkileri Cilt III,

s: 657-662. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Üretim ve Geliştirme Genel Müdürlüğü, Emre Basımevi, İzmir.

Karp, A. 1991. Cytological techniques. P. C4:1-13. In K. Lindsey (ed.) Plant tissue culture manual. Kluwer, Dordrecht, the Netherlands.

Kula, A., B., Dudizak, E., Sliwinska, E., Grabowska-Joachimciak, A., Stewart, H., Golczyk, and A. J., Joachimciak. 2006. Cytomorphological studies on American and European *Phleum commutatum* Gaud. (*Poaceae*). Acta Biol. Crac. Ser. Bot. 48(1):99-108.

Lourerio J., D., Kopecky, S. Castro, C. Santos, P. Silveira. 2007. Flow cytometric and cytogenetic analyses of Iberian Peninsula *Festuca* ssp. Plant Systematics and Evolution. 269: 89-105.

Lu, K., S. M. Kaepler, K. P. Vogel, K. Arumuganathan, and D. J. Lee. 1998. Nuclear DNA content and chromosome numbers in switchgrass. Great Plains Research 8 (Fall 1998): 269-80.

Markgraf-Dannenberg I. von. (1980) *Festuca* L. In: Tutin T. G., Heywood V. H., Burges N. A., Valentine D. H., Walters S. M., Markgraf-Dannenberg, I. 1985. *Festuca*. – In: P.H. Davis, Flora of Turkey and East Aegean Islands. Vol. 9: pp. 400-442. Edinburgh Univ. Press, Edinburgh.

Melderis A (1985) *Agropyron* (Gaertner). In: Davis PH (ed.) *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Vol. 9, pp. 204 206. Edinburgh Univ. Press., Edinburgh,

Metcalfe CR. (1960) Anatomy of Monocotyledons I, Gramineae, Oxford

Meusel et al. 1965. *Koeleria* Vergleichende Chorologie der Zentraleuropäischen Flora. Jena: Gustav Fischer Verlag, 46.

Narayan, R. K. J. 1987. Nuclear DNA changes, genome differentiation and evolution in *Nicotiana* (*Solanaceae*). Pl. Syst. Evol. 157:161-180.

Nevski SA (1934). Tribe XIV. Hordeae Benth. In: Komorov VL., *Flora of the U.S.S.R.* pp. 590–722. The Botanical Institute of the Academy of Sciences of the USSR. Leningrad, USSR.

Ohri, D. (1998). Genome Size Variation and Plant Systematics. Ann. Bot., 82 (Suppl. A.): 750-812.

Pecinka, A., P. Suchankova, M. A. Lysak, B. Travnicek and J. Dolezel. 2006. Nuclear DNA content variation among Central European *Koeleria* Taxa. Annals of Botany. 98:117-122

Rayburn, A. L., J. A. Auger, E. A. Benzinger, and A. G. Hepburn. 1989. Detection of intraspecific DNA content variation in *Zea mays* L. By flow cytometry. J. Exp. Bot. 40:1179-1183.

Rees, H. and M. R. Walter. 1965. Nuclear DNA and the evolution of wheat. Heredity. 20:73-82.

Rognli, O. A., M. C. Saha, S. Bhamidimarri, and S. Van der Heijden. 2010. Fescues. In Fodder Crops and Amenity Grasses. Edited by Boller, B., U. K. Posselt, F. Veronesi. Springer. ISBN 978-1-4419-0759-2.

Ruemmele, B. A., L. A. Brillman, D. R. Huff. 1995. Fine fescue germplasm diversity and vulnerability. *Crop Sci.* 35:313-316.

Schmit, R., M., R. W. Duell, C. R. Funk. 1974. Isolation barriers and self-compatibility in selected fine *fescues*. In E. C. Roberts (ed) *Proc. Int. Turfgrasses Res. Conf., 2nd Blacksburg, VA. 19-21 July 1973.* ASA and CSSA, Madison, WI, pp. 9-17

Smarda P., P., Bures, L., Horova, B., Foggi and R. Graziano. 2008. Genome Size and GC Content Evolution of *Festuca*: Ancestral Expansion and Subsequent Reduction. *Annals of Botany* 101: 421–433, 2008

Srivastava, S. And U. C. Lavania. 1991. Evolutionary DNA variation in *Papaver*. *Genome.* 34:763-768.

Steel, R. G. D. and J. H. Torrie. 1960. *Principles and Procedures of Statistics.* McGraw-Hill, Newyork.

Stewart, A. V., A., Joachimiak and N., Ellison. 2008. Genomic and geographic origin of timothy (*Phleum pratense* L.). In *molecular breeding of forage and turf (the proceeding of the 5th international symposium on the molecular breeding of forage and turf)* edited by Yamada, T. and G. Spangenberg. Springer, Newyork, pp. 71-81

Tuna, M., K. P. Vogel, K. Arumuganathan, and K. S. Gill. 2001. DNA content and ploidy determination of bromegrass germplasm accessions by flow cytometry. *Crop sci.* 41:1629-1634.

Tuna, M., E. Teykin, A. Buyukbasar. 2007. Nuclear DNA content and ploidy determination of *Dactylis* germplasm accessions using flow cytometer” *Eucarpia conference, Proceedings of XIXth congress of Fodder crops and Amenity grasses, Kopenhag, Denmark.*

Tzvelev NN (1976). *Poaceae URSS. Tribe 3. Triticeae Dumort.* U.S.S.R Academy of Science Press, Leningrad.

Verma, S. C. and H. Rees. 1974. Nuclear DNA and the evolution of allotetraploid *Brassica*. *Heredity.* 33:61-68.

Vogel, P. K., K. Arumuganathan, and K. B. Jensen. 1999. Nuclear DNA content of perennial grasses of the Triticeae. *Crop Sci.* 39:661-667.

Watson, L., Dallwitz, M.J., 1992. *The Grass Genera of the World.* C.A.B. International, Wallingford, Oxon, UK.

Webb D. A. (eds.) *Flora Europaea, Vol. 5: 125–153.* Cambridge University Press, Cambridge, U.K.