

**FLOW SİTOMETRİ İLE TÜRKİYE’NİN FARKLI COĞRAFİ BÖLGELERİNDEN
YENİ TOPLANMIŞ KOYUN YUMAĞI (*FESTUCA OVINA* L.)
POPÜLASYONLARININ ÇEKİRDEK DNA İÇERİĞİ VE PLOİDY DÜZEYİNİN
BELİRLENMESİ**

SEBAHATTİN ANIL ÇAKIR

Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Metin TUNA

2025

T.C.
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



FLOW SİTOMETRİ İLE TÜRKİYE’NİN FARKLI COĞRAFİ BÖLGELERİNDEN
YENİ TOPLANMIŞ KOYUN YUMAĞI (*FESTUCA OVINA* L.)
POPÜLASYONLARININ ÇEKİRDEK DNA İÇERİĞİ VE PLOİDY DÜZEYİNİN
BELİRLENMESİ

SEBAHATTİN ANIL ÇAKIR

ORCID: 0009-0001-3559-8829

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Danışman: Prof. Dr. Metin TUNA

MAYIS-2025

Her hakkı saklıdır.

ÖZET

FLOW SİTOMETRİ İLE TÜRKİYE’NİN FARKLI COĞRAFİ BÖLGELERİNDEN YENİ TOPLANMIŞ KOYUN YUMAĞI (*FESTUCA OVINA L.*) POPÜLASYONLARININ ÇEKİRDEK DNA İÇERİĞİ VE PLOİDY DÜZEYİNİN BELİRLENMESİ

Sebahattin Anıl ÇAKIR

Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Metin TUNA

Yumaklar (*Festuca L.*) yaklaşık 500’e ulaşan tür sayıları ile buğdaygiller familyasının en büyük ve geniş dağılıma sahip üyelerinden birisidir. Başlıca kaba ve narin yapraklılar olmak üzere iki guruba ayrılırlar. Koyun yumağı (*F. ovina L.*) bir narin yumak türüdür. Aşırı soğuk, kurak ve kötü toprak koşullarında yetişebilen nadir türlerden biri olup, ülkemizin iç ve doğu bölgelerinde meraların önemli türlerindedir. Buna ek olarak gölgeye dayanıklı olması ve sık bitki örtüsü oluşturması nedeniyle suyun kısıtlı olduğu yerlerde ya da daha az bakım gerektiren yeşil alanlarda kullanılmaktadırlar. Temel kromozom sayısı $x=7$ olan yumaklarda ploidi diploid ile dodekaploid arasında değişim göstermektedir. Bu yüzden ıslah projelerinde kullanmak üzere doğadan toplanmış olan yumak genetik kaynaklarının teşhislerinin doğru yapılması ve ploidi düzeylerinin belirlenmesi zorunludur. Flow sitometri sitogenetiğin yeni tekniklerinden birisi olup, hücre çekirdeği içerisindeki toplam DNA miktarını ölçmede kullanılan bir yöntemdir. Yürütülen bu tez projesinin amacı flow sitometri ile ülkemizin farklı bölgelerinden koyun yumağı olarak yeni toplanmış olan popülasyonları flow sitometri ile analiz ederek çekirdek DNA içeriklerini belirlemek ve popülasyonların ploidi düzeylerinin belirlenmesinde kullanmaktır. Çalışmada elde edilen sonuçlara göre incelenen popülasyonların ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri 4,63 ile 19,37 pg değerleri arasında değişim göstermekte ve bu değerlere göre popülasyonlar birbirinden kolayca ayrılabilen 4 grup oluşturmaktadırlar. Yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre çalışmada incelenen popülasyonların ploidi düzeyi diploid ($2n=14$) ile dekaploid ($2n=70$) arasında değişim göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Çekirdek DNA içeriği, *Festuca ovina L.*, flow sitometri, genetik kaynak, ploidi, taksonomi, çayır mera, yem bitkisi, yeşil alan bitkisi

ABSTRACT

DETERMINATION OF NUCLEAR DNA CONTENT AND PLOIDY LEVEL OF NEWLY COLLECTED SHEEP FESCUE (*F. OVINA* L.) POPULATIONS FROM DIFFERENT GEOGRAPHICAL REGIONS OF TURKEY BY FLOW CYTOMETRY

Sebahattin Anıl akır

Department of Field Crops

MSc. Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Metin TUNA

With nearly 500 species, fescues (*Festuca* L.) are among the largest and most widely distributed members of the Poaceae family. They are mainly divided into two groups: coarse and fine types. Sheep fescue (*F. ovina* L.) is a species within the fine-leaved fescue group. It is one of the rare plant species capable of growing under extreme cold, dry, and poor soil conditions and therefore it is an important pasture species in Türkiye's central and eastern regions. In addition, due to its shade tolerance, soft-textured leaves, and dense ground cover, it is also included in mixtures used for establishing green spaces where water is limited or where lower maintenance is required. In fescues, the basic chromosome number is $x=7$, and ploidy levels range from diploid to dodecaploid. Therefore, for use in breeding programs, it is essential to accurately identify the genetic resources collected from the nature and determine their ploidy levels. Flow cytometry is one of the modern techniques in cytogenetics and is used to measure the total DNA amount within a cell nucleus. The aim of this thesis project is to analyze newly collected sheep fescue populations from different regions of Turkey using flow cytometry to determine their nuclear DNA content and use the data to assess their ploidy levels. According to the results obtained in the study, the average $2C$ nuclear DNA contents of the examined populations range from 4,63 to 19,37 pg, forming four distinct groups that can be easily differentiated. Statistical analysis revealed that the differences among these groups are statistically significant. Based on these results, the ploidy levels of the populations studied range from diploid ($2n=14$) to decaploid ($2n=70$).

Keywords: Nuclear DNA content, *Festuca ovina* L., flow cytometry, genetic resources, ploidy, taxonomy, pasture, turf

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
SİMGELER DİZİNİ	vi
KISALTMALAR DİZİNİ	vii
TEŞEKKÜR	viii
1. GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti	5
1.2 Çalışmanın Amacı ve Kapsamı.....	8
2. BİTKİ ÖZELLİKLERİ	9
3. MATERYAL VE YÖNTEM	12
3.1 Materyal	12
3.2 Yöntem.....	12
3.2.1 Tohumların çimlendirilmesi	17
3.2.2 Çekirdek DNA analizi	17
3.2.3 Analiz için örneklerin hazırlanması	17
3.2.4 Flow sitometri ile çekirdek DNA içeriğinin hesaplanması.....	17
3.2.5 İstatiksel analiz	17
3.2.6 Çekirdek DNA içeriği ile ploidi seviyelerinin ilişkilendirilmesi.....	18
3.2.6.1 Kök uçlarının eldesi	18
3.2.6.2 İlk İşlem.....	18
3.2.6.3 Materyalin tespiti:.....	18
3.2.6.4 Hidroliz:.....	18
3.2.6.5 Feulgen boyaması	18
3.2.6.6 Sitolojik preparatların hazırlanması	18
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	20
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	40

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan tek bitkilere ait çekirdek DNA içerikleri, hesaplanan popülasyon ortalamaları, standart sapma, güven aralıklarına ait değerler ve popülasyonların ploidi düzeyleri20



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>Festuca ovina</i> bitkilerinin görünüşü.....	10
Şekil 3.1. Koyun yumağı popülasyonlarının toplandığı lokasyonlar	12
Şekil 3.2. Çalışmada kullanılmış olan Partec hazır kitleri içerisinde yer alan ve Propidium iodide, extraction buffer ve staining buffer solüsyonlarını bulunduran cam şişelerin görünüşü	13
Şekil 3.3. Flow Analizi için örnek hazırlamada kullanılacak yaprak dokularının yerleştirildikleri petri kabındaki görünüşleri.....	14
Şekil 3.4. Bitkilere ait yaprak dokularının jilet yardımı ile parçalanması.....	14
Şekil 3.5. Homojenize edilmiş yaprak örneğinin filtre aracılığı ile cam tüp içerisine transfer edildikten sonraki görüntüsü	15
Şekil 3.6. Staining solusyonu ilavesinden sonra cam tüp içerisinde bulunan örneğin görünüşü	15
Şekil 3.7. Flow sitometri cihazı ile örneğin analiz edilmesi.....	16
Şekil 3.8. <i>Festuca</i> spp. bitkisi ve standarda ait (<i>Vicia sativa</i>) G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları	17
Şekil 4.1. Diploid <i>Festuca</i> spp. bitkisi ve standarda ait (<i>Vicia sativa</i>) G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları	34
Şekil 4.2. Tetraploid <i>Festuca</i> spp. bitkisi ve standarda ait (<i>Vicia sativa</i>) G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları	34
Şekil 4.3. Hexaploid <i>Festuca</i> spp. bitkisi ve standarda ait (<i>Vicia sativa</i>) G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları	35
Şekil 4.4. Dekaploid <i>Festuca</i> spp. bitkisi ve standarda ait (<i>Vicia sativa</i>) G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları	35

SİMGELER DİZİNİ

C	Çekirdek DNA içeriği
2C	Diploid Çekirdek DNA içeriği
1C	Haploid Çekirdek DNA içeriği
GC	Guanin- sitozin içeriği
G1	Hücre bölünmesinde ilk evre
2-4D	2,4-Diklorofenoksiasetik asit
G2	Hücre bölünmesinde ikinci evre
T*S _x	İstatistiksel ortalama değer
SD	Standart sapma



KISALTMALAR DİZİNİ

μL	Mikrolitre
ml	Mililitre
pg	Pikogram
PI	Propidium iodide
DNA	Deoksiriboz nükleik asit
pH	Çözeltinin asitlik veya bazlık derecesini tarif eden ölçü birim
1N HCL?	% 1'lik Hidrojen klorür (HCl) çözeltisi
RNA	Ribonükleik asit
RNAse	Ribonükleaz
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat Derece
cm	Santimetre
cm^2	Santimetre kare
m^2	Metrekare
FM	Flow sitometri
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
qPCR	Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmamda, tezimin her aşamasında yardımcı olan, tez çalışmamı başarıyla tamamlamamı sağlayan, engin bilgi ve deneyimlerinden çok faydalandığım tez danışmanım, çok değerli hocam Prof. Dr. Metin TUNA'ya tüm içtenliğimle teşekkür ederim. Tez çalışmam boyunca yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Zir. Müh. Veli BARAK, Zir. Müh. Batuhan TUNA ve Zir. Müh. Sude DEVECİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca projemize sağlanan destekten dolayı Tübitak'a teşekkür ederiz. Tüm hayatımda olduğu gibi eğitim hayatımda da her zaman yanımda olan, hayattaki en büyük şansım tüm aileme de teşekkür ve minnetimi özellikle belirtmek istiyorum.

Sebahattin Anıl Çakır
Ziraat Mühendisi

1. GİRİŞ

Buğdaygil bitkileri yeryüzünü kaplayan bitki örtüsünün en önemli bileşenleridir. Tür sayısının fazlalığı ve yüksek adaptasyon kabiliyetleri nedeniyle diğer türlerin yetişemediği, en uç bölgelerde dahi birçok üyesine rastlamak mümkündür. Toprak üzerinde ve içerisinde yaşayan diğer tüm canlıların ana besin kaynağını oluşturmaları ve doğaya kattıkları estetik güzelliklere ek olarak toprak ve su gibi doğal kaynaklar ile ekolojinin korunmasında da çok önemli bir role sahiptirler.

Familyanın en büyük ve geniş dağılıma sahip üyelerinden birisi olan yumak (*Festuca* L.) cinsi yaklaşık 500 kadar türü kapsamaktadır. Yumak türleri ağırlıklı olarak kuzey yarı küre olmakla birlikte her iki yarıkürede de yayılış göstermektedirler. Temel kromozom sayısı $n=7$ olan cinsin türleri arasında ploidi diploid ($2n=14$) ile dodekaploid ($2n=84$) arasında değişim göstermektedir. Ekolojik şartların çeşitliliği nedeniyle bitki genetik kaynakları bakımından son derece zengin olan ülkemizde cins içerisinde yer alan 27 si endemik 44 tür ve 53 takson doğal olarak yetişmektedir (Markgraf-Dannenberg, 1985). Çoğunlukla dağlık alanlarda, orman kenarlarında, çayır meralarda ve bozkırlarda bulunur ve bu alanların ana unsurları arasında yer almaktadır.

Yumak türleri, buğdaygiller familyasının diğer üyeleri gibi uzun ve dar yapraklarıyla karakterize edilmelerine rağmen kaba (uzun ve nispeten geniş) ve narin (kısa ve dar) yapraklılar olmak üzere başlıca iki guruba ayrılırlar. Kaba yapraklı türler genellikle yem bitkisi olarak kullanılırlar. Bu amaçla geniş alanlarda yetiştirilen çayır yumağı (*Festuca pratensis* Huds.) ve kamışsı yumak (*Festuca arundinacea* Schreb.) gurubun en büyük ekonomik öneme sahip iki türüdür. Orijini Avrupa ve Avrasya ya dayanan çayır yumağı yüksek yem verimi ve kalitesine sahiptir. Kamışsı yumağa göre yoğun otlatmalara daha uygun olup, yüksek bölgelerde daha sık rastlanır. Bununla birlikte Kuzey Amerika da kurağa daha dayanıklı olan kamışsı yumak kadar yaygın değildir (Casler, Undersander, Fredericks, Combs ve Reed, 1998). Yüksek verim, değişik toprak ve iklim şartlarına adaptasyonu, azota karşı olan tepkisinin yüksek ve uzun ömürlü olması gibi olumlu özelliklerinden dolayı kamışsı yumak Amerikada 15 milyon hektarlık bir ekim alanına sahiptir.

Narin yumaklar ise oldukça dar ve kısa yapraklara sahip olup, kırmızı yumak (*Festuca rubra* L.) ve koyun yumağı (*Festuca ovina* L.) olmak üzere iki komplekse ayrılmaktadır. Hard fescue (*F. brevipila*), sheep fescue (*F. ovina*) ve blue fescue (*F. glauca*) gibi türler *Festuca*

ovina gurubu içerisinde yer alan başlıca türlerdir. Red fescue (*F. rubra*) ve chewings fescue (*F. rubra subsp. commutata*) gibi türler ise *Festuca rubra* gurubu içerisinde yer alan başlıca türlerdir. Yaprak ayasının anatomisi, yaprak kınının morfolojisi ve rizomlu ya da rizomsuz olmalarına göre küçük yapraklı bu türleri komplekslerine göre sayırmak mümkündür (Huff ve Palazzo, 1998). Ancak aynı kompleks içerisinde yer alan türleri birbirinden ayırt etmek son derece zordur.

Koyun yumağı aşırı soğuk, kurak ve kötü toprak koşullarında yetişebilen nadir türlerden biri olup, ülkemizin bu tür koşullara sahip iç bölgelerinde otlatılarak değerlendirilen meraların önemli türlerindedir. Buna ek olarak gölgeye dayanıklı olması, yumuşak dokulu yaprakları ve sık bitki örtüsü oluşturması nedeniyle suyun kısıtlı olduğu ya da daha az bakım gerektiren yeşil alanların tesisinde kullanılan karşılarda da yer almaktadır (Fridley ve Grime, 2010).

Bu ekonomik öneminden dolayı ıslahçılar, koyun yumağının yemlik ve yeşil alan tesisinde kullanıma uygun tiplerini geliştirerek bu özelliklerini daha da iyileştirmek için çabalamaktadır. Bu amaçla genetik materyal olarak çoğunlukla doğal floradan toplanan popülasyonlar kullanılmaktadır (Bonos ve Huff, 2013). Ancak yapılan bu tür tohum toplama çalışmaları sırasında genellikle hedef türü morfolojik olarak benzer türlerden ayırmada ciddi sorunlar yaşanmaktadır. Bu durum toplanmış olan genetik materyallerin ıslah projelerinde kullanımını büyük ölçüde sınırlandırmaktadır. Bundan dolayı bu şekilde toplanmış bitki genetik kaynaklarının ıslah çalışmalarına dahil edilmeden önce tür teşhislerinin uzmanlar tarafından doğru bir şekilde yapılması zorunludur. Aksi takdirde ortaya çıkabilecek genetik uyumsuzluk ve kısırılık gibi sorunlar araştırmacıların zaten kıt olan emek, zaman ve maddi kaynaklarının heba olmasına sebep olmaktadır. Ancak bu anlamda koyun yumağının da içerisinde bulunduğu narin yumak gurubu en sorunlu bitki grupları içerisinde yer aldığından türlerin teşhis edilerek birbirlerinden ayrılması ciddi bir deneyim ve uzmanlık gerektirmektedir.

Morfolojik özelliklerin türlerin teşhisinde yetersiz kaldığı durumlarda ploidi analizinin son derece yararlı olabildiği çok eskilerden beri bilinmektedir (Litardière, 1923; Lewitsky ve Kuzmina, 1927). Daha önce yapılan çalışmalarda her iki kompleksin türleri için de çok çeşitli kromozom sayıları bildirilmiştir (Huff ve Palazzo, 1998). Bu çalışmalarda koyun yumağı için belirlenmiş olan kromozom sayıları $2n=14$ ile $2n=70$ arasında değişmektedir. Bununla birlikte Wilkinson ve Stace (1991) yaptığı çalışmasında koyun yumağı kompleksi içerisinde yer alan türlerinin çoğunun yalnızca tek bir ploidi seviyesine sahip olduğunu belirlemiş ve önceki çalışmalar arasında gözlenen kromozom sayısı farklılıklarının araştırmacıların günümüzde ayrı

türler olarak kabul edilen birçok yumak taksonunu çalışmalarına koyun yumağı ismiyle dahil etmesi ile açıklamıştır. Benzer şekilde, Hubbard (1984)'de yaptığı çalışmasında ince yapılı yumak türlerinin sınıflandırmasında yalnızca tek bir ploidi seviyesi kullanmıştır. Bu sonuçlara göre ploidi düzeyi koyun yumağı kompleksi içindeki türlerin teşhis edilmesi ve sınıflandırılmasında güvenilir bir taksonomik araç olarak kullanılabilmesi ortaya çıkmakta ve bu amaçla çok kez yararlanılmıştır (Fuente ve Ortunez, 2000).

Geneleksenel olarak ploidi analizi bitkilerin kök ucu meristem dokuları kullanılarak hazırlanan sitolojik preparatlar üzerindeki hücrelerin mitoz kromozamlarının ışık mikroskobu altında sayılması ile yapılmaktadır (Karp, 1991). Ancak yöntem uzun zaman almakta, yüksek oranda bölünme gösteren hücrelere, el becerisine ve deneyime ihtiyaç duymaktadır. Bundan dolayı özellikle bu çalışmada olduğu gibi çok sayıda bitkinin ploidi düzeyinin belirlenmesi gerektiği durumlarda yöntem yetersiz kalmaktadır (Brummer, Cazarro ve Luth, 1999).

Bir bitkinin tüm kromozomları hücre çekirdeği içerisinde yer almaktadır ve yapılarında yüksek orada (%90) nükleik asit (DNA) bulundurmaktadır. Bundan dolayı, çekirdek içerisinde bulunan DNA miktarı ile ploidi düzeyi (kromozom sayısı) arasında doğrusal bir ilişki vardır. Bu neden ile çekirdek DNA miktarı uygun bir yöntem ile hassas olarak belirlenmesi durumunda ploidi düzeyi ile ilişkilendirilebilmektedir (Lu, Kaepler, Vogel, Arumuganathan ve Lee, 1998).

Flow sitometri sitogenetiğin yeni tekniklerinden birisi olup, hücre çekirdeği içerisindeki toplam DNA miktarını belirlemede kullanılan bir yöntemdir. Yöntem çok geçmeden daha düşük maliyetli olması, kolaylığı, yüksek hızı ve hassasiyeti nedeniyle çekirdek DNA analizlerinde tercih edilen yöntem olmuştur (Rayburn, Auger, Benzinger ve Hepburn, 1989; Heslop-Harrison, 1995).

Flow sitometri ile yapılan bu çalışmaların bazılarında Arumuganathan ve Earle (1991), 100'den fazla önemli kültür türünün çekirdek DNA içeriklerini belirlemiştir. Vogel, Arumuganathan ve Jensen (1999), çok yıllık *Triticeae* türlerinin genomlarındaki baz DNA içeriğini belirlemiştir. Yapılan diğer çalışmalarda ise flow sitometri *Panicum* (Hultquist, Vogel, Lee, Arumuganathan, ve Kaepler, 1997; Lu vd., 1998), *Medicago* (Brummer vd., 1999); *Bromus* (Tuna, Vogel, Arumuganathan ve Gill, 2001); *Cynodon* (Gulsen vd., 2009); *Dactylis* (Tuna, Deepak., Shresta, Arumuganathan and Golan-Goldhirsh, 2004); *Carthamus* (Garnatje, Garcia, Vilatersana ve Vallès, 2006); *Festuca* (Huff ve Palazzo, 1998; Šmarda, Bures, Horova, Foggi ve Rossi, 2008; Šmarda ve Bureš, 2006; Šmarda ve Staněk, 2006); *Koeleria* (Pecinka,

Suchankova, Lysak, Travnicek ve Dolezel, 2006); *Hypericum* (Savaş Tuna, Duyu, Uzun, Yücel ve Tuna, 2017) ve *Sternbergia* (Koçyiğit ve Tuna, 2016) türlerinin çekirdek DNA içeriğini ve ploidi düzeyini belirlemek amacıyla da kullanılmıştır.

Flow sitometri ile yapılan ploidi analizleri kapsamında elde edilen çekirdek DNA içeriği bilgisi tür spesifik olması nedeniyle ayrıca genom analizleri, evrim ve gen bankası aksesyonlarının taksonomik teşhis ve safiyetlerinin incelenmesinde son derece yararlı olmakta olup, bu amaçlarla kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır (Ohri, 1998, Huff ve Palazzo, 1998; Naganowska, Wolko, Sliwiska ve Kaczmarek, 2003; Šmarda ve Bureš, 2006; Vižintin ve Bohanec, 2008; Orchard ve Zonneveld, 2009; Savaş Tuna vd., 2016).

Bu çalışmanın amacı ıslah programlarında kullanmak amacıyla ülkemizin farklı coğrafi bölgelerinden toplanmış 225 koyun yumağı popülasyonunun flow sitometri ile çekirdek DNA içeriklerini belirlemek ve elde edilen bilgiyi bu popülasyonların ploidi düzeyini belirlemek amacıyla kullanmaktır.

1.1 Literatür Özeti

Yumaklar (*Festuca* L.), hem tür sayısı hem de ekolojik ve ekonomik önemi bakımından ılıman buğdaygillerin ana cinslerinden biri olup, en iyi yem, mera ve çim türlerinden bazılarını içerisinde bulundurmaktadır. Cins hem kaba hem de narin yapraklı yumak taksonlarını hem de *Loliinae* taksonlarını (*Festuca* ve birkaç küçük alt cins) içeren 500 kadar kabul edilmiş tür içermektedir. Yumak türleri dünyanın ılıman kuşakları ile dağlık subtropikal ve tropikal bölgelerinde yayılış göstermektedir (Garnatje, Catalán, Inda, Vallès ve Pyke, 2023).

Kaba yumak türlerinden kamışsı yumak hızlı ve güçlü büyümeleri ve yüksek kuru madde verimleri nedeniyle hem yem hem de mera bitkisi olarak kullanılabilirken, güçlü kardeşlenme kapasitesine ve rizomlara sahip kırmızı yumak türü doğal çayırları iyileştirmek için daha fazla mera bitkisi olarak kullanılması daha uygun görülmektedir. Ayrıca, her iki tür de yeşil alan bitkisi olarak kullanılmaktadır (Özpinar, Sabancı, Acar, Aksu ve Niksarlı, 2014).

Aiken ve Consaul (1995), *Festuca* cinsinin taksonomisinde yaprak anatomisinin 1882 yılından beri kullanıldığını bildirmişlerdir.

Hackel (1882), Avrupa kıtasına dair yumak cinsinin ilk monografisini sunmuş olup, 37 taksonun karakteristik özelliklerini blok diyagramlar çizerek ortaya koymuştur.

Temel kromozom sayısı $n = 7$ olan yumak cinsinde ploidi diploid ($2n = 2x = 14$) ile dodekaploid ($2n = 12x = 84$) arasında değişim göstermektedir.

Tzvelev (1976) koyun yumağı'nın diploid ($2n = 14$) ve tetraploid ($2n = 28$) olarak sadece iki farklı formunun olduğunu bildirmiştir. Hubbard (1984) ile Wilkinson ve Stace (1991) ise koyun yumağı ve kırmızı yumak (*F. rubra*) komplekslerinden oluşan narin (fine fescue species) yumak türlerinin çoğunun sadece tek bir ploidi düzeyine sahip olduğunu bildirmiştir. Son yapılan revizyonlara göre ise koyun yumağı türünün $2n=14$ kromozom ile diploid ploidi düzeyine sahip olduğu kabul edilmiştir. Koyun yumağı'nın $2n=28$ kromozoma sahip tetraploid sitotipinin ise koyun yumağının'nın en yaygın alt türü *F. ovina* ssp. *hirtula*, olarak kabul edilmektedir (Jenkins, 1955; Wilkinson ve Stace, 1991).

Huff ve Plazzo, (1998) daha önce kırmızı yumak ve koyun yumağı kompleksleri içerisinde yer alan ancak cins üzerinde yapılan revizyonlar da farklı tür isimleri almış ve yeşil alanların oluşturulmasında kullanılan *Festuca rubra* ssp. *rubra*, *Festuca trachyphylla*, *Festuca rubra* ssp. *commutata*, *Festuca brachyphylla*, *Festuca rubra* ssp. *litoralis*, *Festuca ovina*, *Festuca*

filiformis, ve false sheep fescue gibi narin *Festuca* türlerini flow sitometri ile analiz etmiş ve türlerin ortalama 2C çekirdek DNA içeriklerini sırasıyla 14,27; 12,55; 11,91; 11,75; 10,89; 5,35; 4,84 ve 4,39 pg olarak belirlemişler ve bu sonuçlara göre türlerin ploidi düzeylerinin diploid ile octaploid arasında değiştiğini saptamışlardır. Araştırmacılar yaptıkları bu çalışmada koyun yumağı'nın 2C çekirdek DNA içeriğini ise 5,35 pg olarak belirlemiş ve diploid olduğunu saptamışlardır. Bununla birlikte çalışmada incelenen türlerden ikisinin daha oldukça yakın DNA içerikleri ile diploid olduğu belirlenmiştir.

Daha yakın tarihlerde Qiu, Hamernick, Ortiz ve Watkins (2020) yaptığı çalışmada yine daha önce kırmızı yumak ve koyun yumağı kompleksleri içerisinde yer alan ve yeşil alanların oluşturulmasında kullanılan *F. brevipila*, *F. ovina*, *F. ovina*, *F. rubra* ssp. *litoralis*, *F. rubra* ssp. *fallax* gibi narin yumak türlerini flow sitometri ile analiz etmiş ve türlerin ortalama 2C çekirdek DNA içeriklerini sırasıyla 14,6; 9,6; 4,7; 16,1; 12,2 ve 12,9 olarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar elde ettikleri bu sonuçlara göre çalışmada inceledikleri narin yumak türlerinin ploidi düzeyinin diploid ($2n=14$) ile octaploid ($2n=56$) arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca çalışmada yer alan diğer tüm türlerin tek bir ploidi düzeyine sahip iken koyun yumağı türünün ise 4,7 ve 9,6 pg DNA içerikleri ile hem diploid ($2n=14$) hem de tetraploid ($2n=28$) forma sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Šmarda vd. (2008), *Festuca* cinsindeki türlerin genom boyutu, GC içeriği ve evrimini incelemişlerdir. Çalışmalarında, yumak türlerinin genom boyutlarındaki geniş varyasyonun, cinsin yüksek genetik çeşitliliğini ve adaptasyon yeteneğini yansıttığını belirtmişlerdir.

Zhang, Li, Wang ve Wang (2019), yumak türlerinin genetik çeşitliliğini ve çevresel stres koşullarına adaptasyonunu araştırmışlardır. Çalışmalarında, yüksek genetik çeşitliliğe sahip popülasyonların, çevresel streslere karşı daha iyi adapte olduklarını ve bu durumun genom boyutu ile ilişkili olabileceğini öne sürmüşlerdir. Bu bulgu, yumak türlerinin genom boyutu ve genetik çeşitliliğinin, çevresel koşullara adaptasyon yeteneklerini etkileyen önemli faktörler olduğunu göstermektedir.

Bennett ve Leitch (2004), yumak cinsi içerisinde bulunan türlerde çekirdek DNA içeriğinin 1,58 ile 4,03 pg aralığında değişiklik gösterdiğini ve bu farklılığın monoploid çekirdek DNA içeriği bakımından değerlendirilerek türlerin sınıflandırılmasında kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Jafari ve Naderi (2023), yumak türlerinde flow sitometri kullanarak ploidi seviyelerinin tespit edilmesine yönelik gerçekleştirdikleri bir çalışmada, yumak türlerinin poliploidi düzeylerinin ekolojik adaptasyonlarına nasıl etki ettiğini incelemiştir. Sonuçlar, artan ploidi düzeyinin, bitkilerin yüksek rakımlı dağlık alanlara, kuraklığa ve soğuğa adaptasyonunu artırdığını göstermiştir. Bu bulguların, özellikle bitki ıslahı amacıyla yapılan seleksiyonlar da yararlı olabileceği belirtilmiştir.

Demiroğlu, Geren, Kir ve Avcıoğlu (2010), Türkiye'nin Akdeniz Bölgesi'nde, özellikle Antalya çevresinde 2006 ve 2007 yıllarında gerçekleştirdikleri saha denemelerinde 5 farklı yumak türü kullanılmışlardır. Her tür için belirli büyüme parametreleri, dayanıklılık, su tüketimi, verimlilik ve kök gelişimi gibi faktörleri değerlendirmişlerdir. Denemeler, doğal koşullarda, doğal sulama uygulamalarıyla yapılmıştır. *Festuca arundinacea* türü, en yüksek kuru madde verimi (yaklaşık 5,2 ton/ha) ve su verimliliği değerlerine sahip bulunmuştur. Bu tür, Akdeniz ikliminin sıcak ve kuru koşullarında yüksek performans sergileyen bir tür olarak öne çıkmıştır. *Festuca rubra* spp. *rubra*, en yüksek gelişim hızına sahip türlerden biri olmuş ve çim örtüsü sağlama konusunda en yüksek oranı (yaklaşık %90) elde etmiştir. *Festuca ovina* ise daha düşük verimlere sahipken, *Festuca rubra* spp. *commutata* türü de aynı şekilde verim açısından daha düşük performans göstermiştir. *Festuca arundinacea* türü, özellikle yüksek nemli ortamda, çimlenme ve genç bitki gelişimi aşamasında en iyi performansı sergileyen tür olup bu bitkide çimlenme oranı %75 civarında iken, *Festuca rubra* spp. *Trichophylla*'nın daha düşük bir çimlenme oranına sahip olduğu (yaklaşık %60) gözlemlenmiştir. *Festuca arundinacea* ve *Festuca rubra* spp. *rubra* türleri, Akdeniz iklim koşullarında en verimli türler olarak öne çıkmış ve özellikle yem bitkisi ve mera iyileştirme uygulamaları için önerilmiştir. Aynı zamanda bu türlerin genetik çeşitliliği ve adaptasyon yeteneklerinin artırılmasının, tarımsal verimliliği ve sürdürülebilirliği artırma açısından faydalı olacağını vurgulamaktadır.

Tuna, Vogel, Arumuganathan ve Gill (2001), bromegrass genetik materyallerinde DNA içeriği ve ploidy düzeylerinin belirlenmesi amacıyla bir çalışma gerçekleştirmiştir. Çalışmada flow sitometri yöntemini kullanarak 184 adet bromegrass aksasyonu incelenmiştir. Aksasyonlar arasında önemli farklılıklar saptanmış ve ploidi düzeyinin diploid ile dekaploid arasında değiştiği belirlenmiştir. Aksasyonların DNA içeriği ve ploidy düzeyleri, taksonomik sınıflandırmaları desteklemiştir. *Bromus inermis* türünün diploid ve tetraploid formlarının bulunduğu doğrulanmıştır.

Savaş Tuna vd. (2017), flow sitometri ile Türkiye'nin batı bölgelerinden toplanan 39 farklı *Hypericum perforatum* L. (sarı kantaron) popülasyonuna ait bitkilerin çekirdek DNA içerikleri ve ploidy düzeylerini belirlenmiştir. Popülasyonların çekirdek DNA miktarları 0,80 ile 2,57 pg/2C arasında değişmiş ve istatistiksel olarak üç gruba ayrılmıştır. Bitkilerin kromozom sayıları ile DNA içerikleri ilişkilendirildiğinde, %86,4'ünün tetraploid, %11,4'ünün hekzaploid, yalnızca %2,2'sinin ise diploid olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar, Türkiye'de doğal olarak yetişen *H. perforatum* bitkilerinin büyük çoğunluğunun tetraploid olduğunu göstermekle birlikte, tür içindeki sitogenetik çeşitliliğe de işaret etmektedir. Elde edilen bulgular, bu bitkinin farmasötik kullanıma yönelik ıslah çalışmalarında genetik kaynak olarak değerlendirilebileceğini ortaya koymuştur.

Savaş Tuna vd. (2016), flow sitometri ile Türkiyenin değişik bölgelerinden toplanmış farklı cinslere ait (*Agropyron* sp., *Festuca* sp. ve *Koeleria* sp.) 169 çok yıllık buğdaygil yem bitkisi popülasyonunun çekirdek DNA içeriklerini ve ploidi düzeylerini belirlemiştir. Çalışmada; yumak popülasyonlarının ploidi düzeyinin diploid ile octoploid arasında değişkenlik gösterirken, *Koeleria* popülasyonlarında diploid ve tetraploid, tüm *Agropyron* popülasyonlarında ise diploid olduğu tespit edilmiştir. Bazı popülasyonların ise farklı ploidi düzeylerine sahip bitkiler içerdiği ve bu yüzden karışık olduğu saptanmıştır.

1.2 Çalışmanın Amacı ve Kapsamı

Bu tez çalışmasının amacı, ıslah çalışmalarında kullanılmak amacıyla Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden toplanmış koyun yumağı popülasyonlarının çekirdek DNA içeriklerini flow sitometri ile ilk defa belirleyerek, ploidi düzeylerini saptamaktır. Çalışmada toplamda 225 farklı yumak popülasyonu bitki materyali olarak kullanılmıştır. Her popülasyon 3 birey ile temsil edilmiş olup, toplamda 675 adet (225x3) bitki analizi gerçekleştirilmiştir.

2. BİTKİ ÖZELLİKLERİ

Yumak cinsi, buğdaygiller familyasına ait çoğunlukla çok yıllık ve bazı tek yıllık olan otsu türlerden oluşmaktadır. Yumaklar, şu anda kabul edilmiş 500 tür olan tür sayısı ile *Poaceae* familyasındaki en büyük cinslerden biridir. Cinsin taksonomisi oldukça karmaşık ve çalışılması zordur (Hitchcock, 1950; Martínez-Sagarra, Casimiro-Soriguer, Castro, Loureiro ve Devesa, 2022). Cinsin üyeleri çok değişik iklim ve toprak şartlarında yetişebilme kapasitesine sahiptir. Yaprakları ince, uzun ve sivri uçludur ve genellikle mavi – yeşil renklindedir. Yumak türleri derin, güçlü bir kök sistemine sahiptir, bu sayede erozyon kontrolünde ve otlama alanlarında dayanıklılık gösterebilmektedirler (Hitchcock, 1950; Barkworth, Anderton, Capels, Long ve Piep, 2007).

Yumak türleri büyük bir çeşitliliğe sahiptirler. Dünyanın değişik bölgelerine iyi bir şekilde adapte olmuş çok sayıda yumak türü bulunmaktadır (Turhan, 1996; Khalaki, Jahantab, Abdipour, Moameri ve Ghorbani, 2022). Yaygın olan yumak türleri kırmızı yumak (*Festuca rubra* L., koyun yumağı (*Festuca ovina* L.), kamışsı yumak (*Festuca arundinacea* Schreb.), uzun yapraklı yumak (*Festuca longifolia* Thuill.), ince yapraklı yumak (*Festuca tenuifolia* Sbirth.) ve çayır yumağı (*Festuca pratensis* L.)'dir (Ogle, Stannard, Scheinost ve John, 2010).

Dağlık bölgelerde bulunan çok yıllık bir buğdaygil bitkisi olan koyun yumağı hem ekolojik hem de ekonomik açıdan önemlidir (Şekil 2.1.) (Khalaki vd., 2022). Koyun yumağı, son derece değişken, yoğun püsküllü, bodur yapılı bir serin mevsim bitkisidir (Şekil 2.2.). Yapraklarının boyutu sap uzunluğunun yarısından da az olmak üzere 10 ile 20 cm aralığında, dar, kıvrımlı, sert, kısa ve yarı dik şekildedir. Bitki gövdesi ise, çok sayıda sert ya da yarı dik konumda yaklaşık 30 cm uzunluğundadır. Salkımlar, dar yoğun bir şekilde dizilim gösterirler. Salkımların boyu yaklaşık 10 cm uzunluğundadır ve her salkımda başakçık başına 4 ila 5 çiçek düşmektedir. Tohumun ucu 1/8 -1/4 oranında kılçıklıdır (Ogle vd., 2010).

Yumak formundaki bitkiler, geniş alana yayılım göstermekle beraber aynı yayılımı gösteren çim formundaki bitkilere göre erozyona karşı daha dirençlidirler. Bu nedenle suni mera tesislerinde ve toprak muhafazasında kullanılabilirler (Turhan, 1996).

Bitki zor koşullarda yetişebilmektedir. Yumak bitkileri serin yağışlı iklimlere adapte olabilen bitkilerdir. Kurak ve verimsiz topraklarda yetişmekle beraber pH'ı 5,5-6,5 arası topraklara da dayanıklılık göstermektedir. Sulama imkanlarının yetersiz olduğu kurak ve soğuk

bölgelerde, besin maddesi içeriği yetersiz olan çakıllı ve kumlu topraklarda iyi gelişim gösterebilen bir bitkidir (Khalaki vd., 2022; Ogle vd., 2010; Turhan, 1996).



Şekil 2.1. Festuca ovina bitkilerinin görünüşü (Fitzgerald, 2018)

Kumlu, gevşek, asitli ve besin değeri düşük topraklarda güzel gelişim gösterebilmektedir. Ancak kurağa çok dayanıklı olmasına rağmen yüksek sıcaklıklara karşı sınırlı seviyede dayanabilmektedir. Zayıf tuzlu, alkali ve asidik toprak koşullarında iyi yetişebilmektedir. Yüksek su seviyelerine veya su baskınlarına karşı dayanıklı değildir. Koyun yumağı, yaşam alanında 304,8 ile 3962 m'ye kadar uzanan yükseklik çeşitliliği göstermektedir. Bu uçlar arasındaki herhangi bir yükseklikte bulunabilmesine rağmen, en yaygın olduğu yükseklik yaklaşık 914,4 ile 2438 m'dir. Çok çeşitli topraklarda tüm koşullarda büyür. Yaygın yaşam alanları, açık bank arazileri, yamaçlar ve sırtlar, parklar, çayırlar, ormanlık alanlar ve açık ponderosa çamı ormanları ve yaygın olarak batı Kuzey Amerika'da

bulunan lodgepole çamı ormanlarıdır. Genellikle büyük mavi ot, dağ süpürge otu, mavi demet buğday otu, ince buğday otu, sardunya, batı civanperçemi, büyük dağ adaçayı, antilop acı otu ve ponderosa çamı ile birlikte bulunur (Ogle, St. John, Stannard, and Holzworth, 2009).

Yumak tohumları 6,35 mm veya daha az derinlikte toprağa ekilmektedir. Tek tür ekim oranı dönüm başına 4 pound (1 pound = 453,59237 gram) tohum veya m² başına yaklaşık 60 adet tohumdur. En iyi ekim sonuçları, ağır ila orta dokulu topraklarda çok erken ilkbaharda veya orta ila hafif dokulu topraklarda sonbaharda ekimden elde edilmektedir. Sulama mevcut olmadığı sürece yaz sonu (Ağustos-Eylül ortası) ekimi önerilmemektedir. Bitkinin yetiştirilmesi sırasında yabancı ot kontrol önlemleri gerektirebilir, ancak 2,4-D (diklorofenoksi asetik asit) gibi herbisitler bitki dört ile altı yapraklı aşamaya ulaşana kadar yapılmamalıdır. (Ogle vd., 2010).

Koyun yumağı üzerinde yapılan çalışmalar, bitkinin kuraklık koşullarına karşı dayanıklılığını artırmak için çeşitli mikrobiyal uygulamaların (örneğin, bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler) etkili olduğunu göstermektedir. Bu uygulamalar, bitkinin su kıtlığı koşullarında bile büyüme ve besin alımını iyileştirebilmektedir.

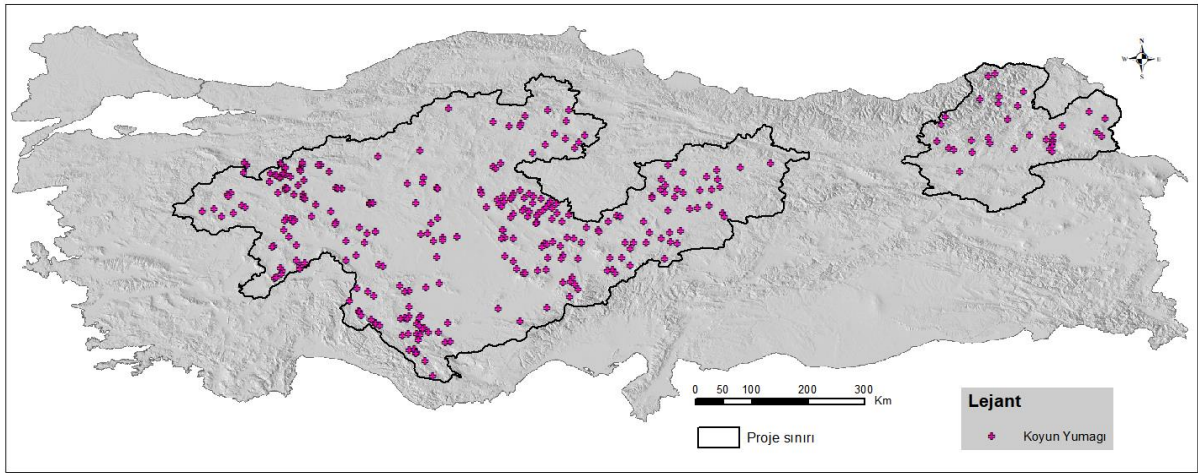
Festuca kryloviana türü, düşük yağışlı ve kurak bölgelerde yaygın olarak yetiştirilen bir türdür. Yapılan araştırmalar, bu türün özellikle su yönetimi konusunda büyük bir duyarlılığa sahip olduğunu ve toprak nemi ile doğrudan ilişkilendirilen büyüme performansının önemli olduğunu göstermektedir. Bu tür, uygun su yönetimi ile birlikte daha iyi büyüme ve metabolik faaliyetler sergileyebilmektedir (Shi, Liang, Liu, Li ve Qin, 2024).

Yapılan bir çalışmada, *Festuca* türlerinin bazı durumlarda yabancı ot büyümesini engelleyebileceğini, ancak farklı iklim koşulları altında bu etkinin değişkenlik gösterebileceğini ortaya koymuştur. Özellikle *Festuca rubra* türlerinin bazı alt türleri, yabancı ot baskısını azaltmada etkili bulunmuştur (Hahn, Morales, Velasco-Cruz ve Leinauer, 2021).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Bu çalışmada; Tübitak-2140077 numaralı ve 'Mera Tipi Çok Yıllık Yem Bitkisi Çeşitlerinin Islahı' başlıklı 1003 projesi kapsamında Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden koyun yumağı olarak toplanmış 225 yumak popülasyonu bitki materyali olarak kullanılmıştır. Toplanan popülasyonların lokasyonları Şekil 3.1'de ve listesi Çizelge 4.1'de sunulmuştur. Bazı popülasyonların orijinal kodlarında karışıklık olduğundan bu popülasyonlar 'Festuca 2015 64' şeklinde tür adı, toplama yılı ve popülasyon numarası şeklinde numaralandırılmıştır.



Şekil 3.1. Koyun yumağı popülasyonlarının toplandığı lokasyonlar

3.2 Yöntem

3.2.1 Tohumların çimlendirilmesi

Çimlendirme işlemi çapı 90 mm olan petri kapları içerisine yerleştirilmiş ve kaptan solüsyonu ile nemlendirilmiş 2 kurutma kağıdı kullanılarak oda koşullarında gerçekleştirilmiştir. Çimlenmeden sonra yeterince gelişme kaydeden fideler 3/1 oranında steril torf ve perlit içeren viyollere şaşırtılmış ve analizler tamamlanana kadar plastik serada doğal koşullarda yetiştirilmiştir.

3.2.2 Çekirdek DNA analizi

Yürütülen bu tez çalışmasında 225 adet yumak popülasyonunun ortalama Çekirdek DNA içerikleri FCM yöntemi ile belirlenmiştir. Çalışmada her popülasyondan 3 tek bitki ayrı ayrı analiz edilmiş ve ortalamaları alınarak popülasyon ortalaması hesaplanmıştır. Analizler

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Tarla Bitkileri Bölümü, Bitki Genetiği, Sitogenetiği ve Islahı Laboratuvarında bulunan PARTEC marka flow sitometri cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Örnekler aynı firmanın ticari çekirdek DNA izolasyon kiti (CyStain PI absolute P) kullanılarak hazırlanmıştır. Şekil 3.2’de gösterilen bu ticari kit içerisinde;

- boyama solüsyonu (her bir örnek için 2 ml boyama solüsyonu, 12 µl PI ve 6 µl RNA)
- izolasyon bufferı (kullanıma hazır),
- propidium iodide, ve
- RNase (toz) bulunmaktadır.



Şekil 3.2. Çalışmada kullanılmış olan Partec hazır kitleri içerisinde yer alan Propidium iodide, extraction buffer ve staining buffer solüsyonlarını bulunduran cam şişelerin görünüşü

3.2.3 Analiz için örneklerin hazırlanması

Örneklerin hazırlanmasında, örnek ve standart olarak kullanılacak bitkilerin her biri için yaklaşık 0,5 cm² büyüklüğünde kesilen taze yaprak dokusu alınarak petri kabına yerleştirilmiştir. Petri kabı içerisine de 500 µl Extraction Buffer ilave edilmiştir. (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Flow Analizi için örnek hazırlamada kullanılacak yaprak dokularının yerleştirildikleri petri kabındaki görünüşleri

Petri kabında bulunan yaprak dokuları keskin bir jilet yardımı ile 30-60 saniye süresince küçük parçalara ayrılana kadar parçalanmıştır (Şekil 3.4). Parçalama işleminden sonra petri kabı içerisindeki solüsyon 10-15 saniye kadar hafifçe çalkalanmıştır.



Şekil 3.4. Bitkilere ait yaprak dokularının jilet yardımı ile parçalanması

Çalkalama işleminden sonra 40 saniye kadar petri kabında bekletilen örnek huni şeklinde olan PARTEC marka 50 µl CellTrics filtre aracılığı ile tüp içerisine transfer edilmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Homojenize edilmiş yaprak örneğinin filtre aracılığı ile cam tüp içerisine transfer edildikten sonraki görüntüsü

Örneği içeren cam tüp içerisine daha önce hazırlanmış 2ml staining solüsyon ilave edilmiştir (Şekil 3.6). Bu aşamadan sonra örnek soğuk (+4 °C) ve karanlık bir ortamda 60 dakika inkübe edilerek işlem tamamlanmıştır. Bu sürenin sonunda örnekler flow sitometri cihazına yüklenerek analiz edilmişlerdir (Şekil 3.7).



Şekil 3.6. Staining solusyonu ilavesinden sonra cam tüp içerisinde bulunan örneğin görünüşü

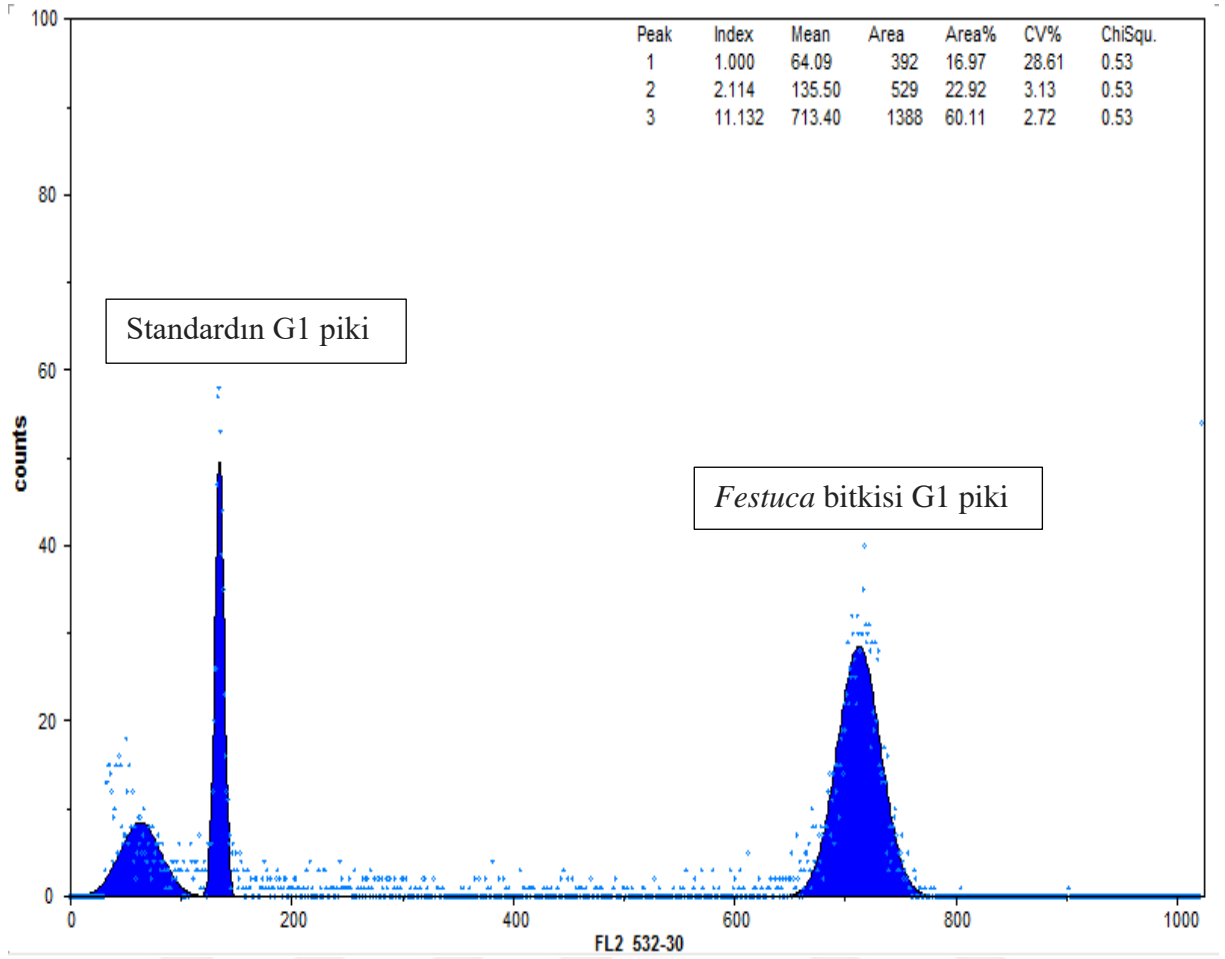


Şekil 3.7. Flow sitometri cihazına örneğin yüklenmesi

3.2.4 Flow sitometri ile çekirdek DNA içeriğinin hesaplanması

Çekirdek DNA içeriğini çalışmamızda olduğu gibi mutlak olarak belirlemek istediğimizde örneğin DNA içeriği, DNA içeriği bilinen bir standart bitki ile kıyaslanmaktadır. Bu durumda standart bitkinin dokuları analiz edilecek örneğe ait dokular ile birlikte aynı anda hazırlanır. Bu şekilde hazırlanmış bir örnek analiz edildiğinde elde edilecek olan flow histogramda örneğin ve standardın G1 pikleri gözlemlenir (Şekil 3.8). Elde edilen piklerden biri analiz edilen örneğe, diğeri ise 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.

Histogramdaki dikey eksen analiz edilen partikül (çekirdek) sayısını ifade ederken, yatay eksen floresan yoğunluğunu gösterir.



Şekil 3.8. *Festuca* spp. bitkisi ve standarda ait (*Vicia sativa*) G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları

Çekirdek DNA içeriğinin belirlenmesi;

Örneğin florasan yoğunluğu (G1 pikinin değeri)

Standardın florasan yoğunluğu (G1 pikinin değeri)

X Standardın pikogram olarak bilinen DNA içeriği

formülü ile gerçekleştirilir. Şekil 3.8.'de sunulmuş olan histogramın mean değerleri formülde yerine yerleştirildiğinde örneğin 2C çekirdek DNA içeriği $(713,4 / 135,5) \times 3,65 = 19,21$ pg olarak hesaplanmış olur.

3.2.5 İstatiksel analiz

225 adet *Festuca* spp popülasyonu ile gerçekleştirilen bu çalışmada bitki popülasyonlarına ait çekirdek DNA içerikleri için güven aralıkları (Confidence Intervals) analiz metodu ile istatistiksel olarak hesaplanmıştır. Yapılan test sonucundaki değerlendirmeler her parametre için bir alt ve üst sınır değeri belirlendikten sonra bu değerlerin karşılaştırılması ile

gerçekleştirilmiştir. Alt ve üst değerleri örtüşen popülasyonlar arasında çekirdek DNA içeriği bakımından farklılık olmadığı kabul edilmiştir. Yöntem (T) testine eşdeğerdir (Steel ve Torrie, 1960).

3.2.6 Çekirdek DNA içeriği ile ploidi seviyelerinin ilişkilendirilmesi

Popülasyonların çekirdek DNA içeriği ile kromozom sayılarını ilişkilendirmek amacıyla Çekirdek DNA içeriği bakımından farklılık gösteren popülasyonları temsilen en az bir bitkinin mitoz kromozomları sayılmıştır. Grup içerisinde yer alan ve aynı miktarda DNA ya sahip olan diğer bitkilerin aynı kromozom sayısına sahip olduğu kabul edilmiştir. Kromozom sayımları kök ucu meristem dokuları kullanılarak Feulgen metoduna göre hazırlanmış olan preparatların ışık mikroskobu altında incelenmesiyle yapılmıştır.

3.2.6.1 Kök uçlarının eldesi

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

3.2.6.2 İlk İşlem

Kök uçları 24 saat soğuk su (+4 °C) ile muamele edilmiştir

3.2.6.3 Materyalin tespiti

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

3.2.6.4 Hidroliz

Kök uçları 1N HCL ile 60 °C de 15 dakika hidroliz edilmiştir.

3.2.6.5 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.

3.2.6.6 Sitolojik 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.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Flow sitometri ile yapılan çekirdek DNA analizleri sonucu elde edilmiş olan tek bitkilere ait çekirdek DNA içerikleri, hesaplanan popülasyon ortalamaları, standart sapma, güven aralıklarına ait değerler ve popülasyonların ploidi düzeyleri Çizelge 4.1’de sunulmuştur. Çizelgeden de görüleceği üzere çalışmada kullanılan yumak popülasyonlarının ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri 4.63 ile 19,37 pg değerleri arasında olmak üzere geniş bir aralıkta değişim göstermektedir. Yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir. Popülasyonlar ortalama çekirdek DNA içeriklerine göre birbirinden kolayca ayrılabilen 4 net grup oluşturmuştur (Çizelge 4.1). Gruplar arasındaki değerler arasında büyük boşluklar bulunurken, grupların içerisinde ise çekirdek DNA içeriği değerleri süreklilik göstermektedir. Gruplara ait flow histogramları Şekil 4.1 (diploid), Şekil 4.2 (tetraploid), Şekil 4.3 (hexaploid) ve Şekil 4.4 (dekaploid)’te sırasıyla gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan tek bitkilere ait çekirdek DNA içerikleri, hesaplanan popülasyon ortalamaları, standart sapma, güven aralıklarına ait değerler ve popülasyonların ploidi düzeyleri

Örnek ismi#	1. bitki	2. bitki	3. bitki	Ort. (pg/2C)	SD	T*S _x	Güven aralığı		Ploidi düzeyi
							alt	üst	
ERZ-58	4,9	4,81	2,38	4,03	1,43	1,65	2,38	5,68	K
Festuca 2015 63	4,76	4,34	4,79	4,63	0,25	0,29	4,34	4,92	D
KRŞ-27 FESTUCA 55	4,8	4,68	4,6	4,69	0,10	0,12	4,58	4,81	D
Festuca 2015 61	4,74	4,7	4,71	4,72	0,02	0,02	4,69	4,74	D
Festuca 2015 64	4,75	4,69	4,73	4,72	0,03	0,04	4,69	4,76	D
KRŞ-32 FESTUCA 71	4,76	4,74	4,7	4,73	0,03	0,04	4,70	4,77	D
Fo-Esk 198	4,88	4,69	4,66	4,74	0,12	0,14	4,61	4,88	D
Festuca 2015 66	4,78	4,7	4,75	4,74	0,04	0,05	4,70	4,79	D
Fo-Esk 199	4,68	4,81	4,77	4,75	0,07	0,08	4,68	4,83	D

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan tek bitkilere ait çekirdek DNA içerikleri, hesaplanan popülasyon ortalamaları, standart sapma, güven aralıklarına ait değerler ve popülasyonların ploidi düzeyleri (Devamı)

Fo-Küt 18	4,76	4,78	4,71	4,75	0,04	0,04	4,71	4,79	D
KRŞ-26 FESTUCA 53	4,88	4,7	4,67	4,75	0,11	0,13	4,62	4,88	D
KRŞ-31 FESTUCA 67	4,76	4,74	4,75	4,75	0,01	0,01	4,74	4,76	D
Festuca 2015 62	4,73	4,78	4,74	4,75	0,03	0,03	4,72	4,78	D
Festuca 2015 75	4,77	4,8	4,68	4,75	0,06	0,07	4,68	4,82	D
Festuca 2015 78	4,84	4,6	4,82	4,75	0,13	0,15	4,60	4,91	D
Festuca 2012 27	4,79	4,75	4,75	4,76	0,02	0,03	4,74	4,79	D
KRŞ-28 FESTUCA 60	4,71	4,79	4,78	4,76	0,04	0,05	4,71	4,81	D
KRŞ-33 FESTUCA 73	4,77	4,74	4,78	4,76	0,02	0,02	4,74	4,79	D
KRŞ-39 FESCTUCA 94	4,87	4,71	4,69	4,76	0,10	0,11	4,64	4,87	D
Festuca 2015 73	4,79	4,74	4,76	4,76	0,03	0,03	4,73	4,79	D
Festuca 2015 76	4,86	4,58	4,85	4,76	0,16	0,18	4,58	4,95	D
Festuca 2015 77	4,65	4,82	4,85	4,77	0,11	0,12	4,65	4,90	D
KRŞ-23 FESTUCA 49	4,78	4,77	4,76	4,77	0,01	0,01	4,76	4,78	D
ANK-1 FESTUCA 2	4,83	4,7	4,79	4,77	0,07	0,08	4,70	4,85	D
KRŞ-21 FESTUCA 43	4,89	4,72	4,74	4,78	0,09	0,11	4,68	4,89	D
KRŞ-27 FESTUCA 54	4,79	4,76	4,83	4,79	0,04	0,04	4,75	4,83	D

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan tek bitkilere ait çekirdek DNA içerikleri, hesaplanan popülasyon ortalamaları, standart sapma, güven aralıklarına ait değerler ve popülasyonların ploidi düzeyleri (Devamı)

KRŞ-27 KAHVEREN Gİ FESTUCA 58	4,78	4,79	4,81	4,79	0,02	0,02	4,78	4,81	D
KRŞ-33 FESTUCA 74	4,78	4,76	4,82	4,79	0,03	0,04	4,75	4,82	D
ÇNK-3 FESTUCA 5	4,79	4,68	4,91	4,79	0,12	0,13	4,66	4,93	D
ÇNK-4 FESTUCA 9	4,84	4,69	4,85	4,79	0,09	0,10	4,69	4,90	D
Festuca 2015 56	4,83	4,86	4,67	4,79	0,10	0,12	4,67	4,90	D
Festuca 2012 21	4,78	4,81	4,78	4,79	0,02	0,02	4,77	4,81	D
SVS-29 FESTUCA 98	4,87	4,77	4,75	4,80	0,06	0,07	4,72	4,87	D
SVS-31 FESTUCA 107	4,87	4,77	4,76	4,80	0,06	0,07	4,73	4,87	D
Festuca 2015 71	4,82	4,71	4,87	4,80	0,08	0,09	4,71	4,89	D
Festuca 2012 31	4,78	4,85	4,78	4,80	0,04	0,05	4,76	4,85	D
Festuca 2012 32	4,83	4,81	4,77	4,80	0,03	0,04	4,77	4,84	D
KRŞ-34 FESTUCA 77	4,82	4,78	4,83	4,81	0,03	0,03	4,78	4,84	D
KRŞ-38 FESTUCA 89	4,88	4,75	4,8	4,81	0,07	0,08	4,73	4,89	D
KRŞ-40 FESTUCA 96	4,94	4,7	4,78	4,81	0,12	0,14	4,67	4,95	D
KRŞ-42 FESTUCA 102	4,8	4,88	4,77	4,82	0,06	0,07	4,75	4,88	D
KRŞ-30 FESTUCA 66	4,89	4,75	4,86	4,83	0,07	0,08	4,75	4,92	D

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan tek bitkilere ait çekirdek DNA içerikleri, hesaplanan popülasyon ortalamaları, standart sapma, güven aralıklarına ait değerler ve popülasyonların ploidi düzeyleri (Devamı)

SVS-21 FESTUCA 71	4,83	4,79	4,87	4,83	0,04	0,05	4,78	4,88	D
Festuca 2015 59	4,89	4,83	4,76	4,83	0,07	0,07	4,75	4,90	D
Fo-Küt 68	4,83	4,78	4,9	4,84	0,06	0,07	4,77	4,91	D
Fo-Küt 77	4,85	4,86	4,81	4,84	0,03	0,03	4,81	4,87	D
KRŞ-29 FESTUCA 62	4,85	4,77	4,89	4,84	0,06	0,07	4,77	4,91	D
6 Kırşehir Boztepe Yolu Festuca	4,84	4,87	4,82	4,84	0,03	0,03	4,81	4,87	D
Kırşehir-27 FESTUCA 56	4,94	4,79	4,79	4,84	0,09	0,10	4,74	4,94	D
Festuca 2015 67	4,97	4,72	4,84	4,84	0,13	0,14	4,70	4,99	D
Festuca 2015 70	4,97	4,82	4,73	4,84	0,12	0,14	4,70	4,98	D
Fo-Küt 80	4,9	4,84	4,8	4,85	0,05	0,06	4,79	4,90	D
SVS-12 FESTUCA 36	4,9	4,85	4,79	4,85	0,06	0,06	4,78	4,91	D
SVS-14 FESTUCA 44	4,91	4,83	4,82	4,85	0,05	0,06	4,80	4,91	D
Festuca 2015 2	4,91	4,73	4,9	4,85	0,10	0,12	4,73	4,96	D
Festuca 2015 21	4,89	4,84	4,81	4,85	0,04	0,05	4,80	4,89	D
Festuca 2015 28	4,91	4,79	4,86	4,85	0,06	0,07	4,78	4,92	D
Festuca 2015 65	4,85	4,89	4,81	4,85	0,04	0,05	4,80	4,90	D
Festuca 2015 69	4,94	4,7	4,91	4,85	0,13	0,15	4,70	5,00	D

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan tek bitkilere ait çekirdek DNA içerikleri, hesaplanan popülasyon ortalamaları, standart sapma, güven aralıklarına ait değerler ve popülasyonların ploidi düzeyleri (Devamı)

Fo-Küt 34	4,86	4,97	4,76	4,86	0,11	0,12	4,74	4,98	D
Fo-Küt 72	5,03	4,83	4,72	4,86	0,16	0,18	4,68	5,04	D
Festuca 2012 5	4,87	4,85	4,85	4,86	0,01	0,01	4,84	4,87	D
Festuca 2015 38	4,89	4,84	4,86	4,86	0,03	0,03	4,83	4,89	D
Festuca 2015 52	4,97	4,75	4,87	4,86	0,11	0,13	4,74	4,99	D
Fo-Esk 173	4,85	4,97	4,79	4,87	0,09	0,11	4,76	4,98	D
SVS-3 FESTUCA 10	4,82	4,88	4,9	4,87	0,04	0,05	4,82	4,91	D
SVS-19 FESTUCA 63	4,86	4,78	4,97	4,87	0,10	0,11	4,76	4,98	D
SVS-27 FESTUCA 94	4,9	4,82	4,88	4,87	0,04	0,05	4,82	4,91	D
Festuca 2012 6	4,9	4,84	4,87	4,87	0,03	0,03	4,84	4,90	D
Festuca 2012 8	4,88	4,83	4,91	4,87	0,04	0,05	4,83	4,92	D
Festuca 2012 10	5,04	4,64	4,94	4,87	0,21	0,24	4,63	5,11	D
Festuca 2012 15	4,88	4,85	4,88	4,87	0,02	0,02	4,85	4,89	D
Festuca 2015 36	4,92	4,84	4,85	4,87	0,04	0,05	4,82	4,92	D
Fo-Esk 171	4,97	4,92	4,75	4,88	0,12	0,13	4,75	5,01	D
Fo-Küt 3	4,91	5,01	4,73	4,88	0,14	0,16	4,72	5,05	D
53- KYS-4 FESTUCA 7	5,03	4,75	4,86	4,88	0,14	0,16	4,72	5,04	D

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan tek bitkilere ait çekirdek DNA içerikleri, hesaplanan popülasyon ortalamaları, standart sapma, güven aralıklarına ait değerler ve popülasyonların ploidi düzeyleri (Devamı)

Festuca 2012 9	4,97	4,79	4,9	4,89	0,09	0,10	4,78	4,99	D
Festuca 2012 22	4,89	4,88	4,86	4,88	0,02	0,02	4,86	4,89	D
Festuca 2015 27	4,9	4,87	4,86	4,88	0,02	0,02	4,85	4,90	D
Festuca 2015 83	4,88	4,94	4,83	4,88	0,06	0,06	4,82	4,95	D
41- SVS-23 FESTUCA 75	4,87	4,91	4,88	4,89	0,02	0,02	4,86	4,91	D
Festuca 2012 17	4,91	4,85	4,92	4,89	0,04	0,04	4,85	4,94	D
Festuca 2012 18	4,86	5,01	4,81	4,89	0,10	0,12	4,77	5,01	D
Festuca 2012 20	4,86	4,91	4,89	4,89	0,03	0,03	4,86	4,92	D
Festuca 2012 23	4,89	4,87	4,9	4,89	0,02	0,02	4,87	4,90	D
Festuca 2015 19	4,94	4,9	4,84	4,89	0,05	0,06	4,84	4,95	D
Festuca 2015 31	4,84	4,92	4,92	4,89	0,05	0,05	4,84	4,95	D
Festuca 2015 34	4,94	4,76	4,96	4,89	0,11	0,13	4,76	5,01	D
Festuca 2015 39	5,01	4,83	4,84	4,89	0,10	0,12	4,78	5,01	D
Festuca 2015 42	4,98	4,92	4,77	4,89	0,11	0,12	4,77	5,01	D
Festuca 2015 45	4,97	4,85	4,84	4,89	0,07	0,08	4,80	4,97	D
Festuca 2015 48	4,92	4,84	4,91	4,89	0,04	0,05	4,84	4,94	D
Festuca 2015 54	4,93	4,88	4,86	4,89	0,04	0,04	4,85	4,93	D

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan tek bitkilere ait çekirdek DNA içerikleri, hesaplanan popülasyon ortalamaları, standart sapma, güven aralıklarına ait değerler ve popülasyonların ploidi düzeyleri (Devamı)

Festuca 2015 53	4,98	4,81	4,9	4,90	0,09	0,10	4,80	4,99	D
Fo-Esk 182	4,89	4,94	4,88	4,90	0,03	0,04	4,87	4,94	D
Fo-Küt 49	5,07	4,9	4,74	4,90	0,17	0,19	4,71	5,09	D
Festuca 2012 30	4,96	4,81	4,92	4,90	0,08	0,09	4,81	4,99	D
Festuca 2015 37	4,91	4,92	4,86	4,90	0,03	0,04	4,86	4,93	D
Festuca 2015 80	4,83	4,99	4,88	4,90	0,08	0,09	4,81	4,99	D
Festuca 2015 86	4,91	4,85	4,93	4,90	0,04	0,05	4,85	4,94	D
SVS-26 FESTUCA 90	4,94	4,91	4,87	4,91	0,04	0,04	4,87	4,95	D
Festuca 2012 4	4,95	4,88	4,89	4,91	0,04	0,04	4,86	4,95	D
Festuca 2012 13	4,91	4,85	4,98	4,91	0,07	0,07	4,84	4,99	D
Festuca 2015 32	4,95	4,85	4,93	4,91	0,05	0,06	4,85	4,97	D
Festuca 2015 40	4,97	4,92	4,84	4,91	0,07	0,08	4,83	4,99	D
Fo-Küt 51	5,07	4,93	4,77	4,92	0,15	0,17	4,75	5,10	D
SVS-1 FESTUCA 28	4,97	4,89	4,89	4,92	0,05	0,05	4,86	4,97	D
SVS-24 FESTUCA 84	4,88	4,97	4,92	4,92	0,05	0,05	4,87	4,98	D
SVS-30 FESTUCA 104	4,95	4,91	4,89	4,92	0,03	0,04	4,88	4,95	D
SVS-12 FESTUCA 36	4,95	4,73	5,08	4,92	0,18	0,20	4,72	5,12	D

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan tek bitkilere ait çekirdek DNA içerikleri, hesaplanan popülasyon ortalamaları, standart sapma, güven aralıklarına ait değerler ve popülasyonların ploidi düzeyleri (Devamı)

Festuca 2015 30	4,94	4,87	4,94	4,92	0,04	0,05	4,87	4,96	D
Festuca 2012 3	4,95	4,94	4,87	4,92	0,04	0,05	4,87	4,97	D
Festuca 2012 7	4,94	4,87	4,94	4,92	0,04	0,05	4,87	4,96	D
Festuca 2012 11	4,88	4,92	4,97	4,92	0,05	0,05	4,87	4,98	D
Festuca 2012 19	4,96	4,97	4,82	4,92	0,08	0,10	4,82	5,01	D
Festuca 2015 51	4,97	4,84	4,96	4,92	0,07	0,08	4,84	5,01	D
Festuca 2015 55	4,96	4,89	4,92	4,92	0,04	0,04	4,88	4,96	D
Festuca 2015 82	5,08	4,9	4,78	4,92	0,15	0,17	4,75	5,09	D
Fo-Küt 54	5,01	4,96	4,82	4,93	0,10	0,11	4,82	5,04	D
32- SVS-8 FESTUCA 26	4,95	4,84	5	4,93	0,08	0,09	4,84	5,02	D
Festuca 2012 33	4,96	4,9	4,94	4,93	0,03	0,04	4,90	4,97	D
Festuca 2015 20	5,07	4,87	4,86	4,93	0,12	0,14	4,80	5,07	D
Festuca 2015 43	5	4,87	4,92	4,93	0,07	0,08	4,85	5,01	D
Festuca 2015 79	5,1	4,84	4,85	4,93	0,15	0,17	4,76	5,10	D
Festuca 2015 84	4,95	4,98	4,87	4,93	0,06	0,07	4,87	5,00	D
Festuca 2012 14	4,98	4,9	4,93	4,94	0,04	0,05	4,89	4,98	D
Festuca 2012 24	4,88	5,05	4,88	4,94	0,10	0,11	4,82	5,05	D

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan tek bitkilere ait çekirdek DNA içerikleri, hesaplanan popülasyon ortalamaları, standart sapma, güven aralıklarına ait değerler ve popülasyonların ploidi düzeyleri (Devamı)

Festuca 2015 25	4,98	4,84	5,04	4,95	0,10	0,12	4,84	5,07	D
Festuca 2015 49	4,92	4,9	4,99	4,94	0,05	0,05	4,88	4,99	D
Festuca 2015 85	4,99	4,79	5,03	4,94	0,13	0,15	4,79	5,08	D
Fo-Küt 63	5,02	4,92	4,92	4,95	0,06	0,07	4,89	5,02	D
ERZ-36	4,99	4,82	5,03	4,95	0,11	0,13	4,82	5,08	D
Festuca 2015 57	4,95	4,99	4,92	4,95	0,04	0,04	4,91	4,99	D
SVS-11 FESTUCA 34	4,98	4,91	4,98	4,96	0,04	0,05	4,91	5,00	D
Festuca 2015 22	4,99	4,87	5,01	4,96	0,08	0,09	4,87	5,04	D
Festuca 2015 24	5,05	4,91	4,91	4,96	0,08	0,09	4,86	5,05	D
Festuca 2015 81	5,08	4,9	4,89	4,96	0,11	0,12	4,83	5,08	D
ERZ-53	5,03	4,89	4,98	4,97	0,07	0,08	4,88	5,05	D
Festuca 2015 23	5,01	5,08	4,84	4,98	0,12	0,14	4,83	5,12	D
Festuca 2015 35	4,96	4,87	5,11	4,98	0,12	0,14	4,84	5,12	D
Festuca 2012 28	4,99	5,04	4,94	4,99	0,05	0,06	4,93	5,05	D
Festuca 2015 3	4,94	4,97	5,05	4,99	0,06	0,07	4,92	5,05	D
KRŞ-25 FESTUCA 52	5,11	4,91	4,99	5,00	0,10	0,12	4,89	5,12	D
Festuca 2012 25	5,1	4,98	4,94	5,01	0,08	0,10	4,91	5,10	D

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan tek bitkilere ait çekirdek DNA içerikleri, hesaplanan popülasyon ortalamaları, standart sapma, güven aralıklarına ait değerler ve popülasyonların ploidi düzeyleri (Devamı)

ERZ-62	5,18	5,11	4,94	5,08	0,12	0,14	4,93	5,22	D
ERZ-83	5,12	5,02	4,94	5,03	0,09	0,10	4,92	5,13	D
ERZ-50	5,12	4,96	5,03	5,04	0,08	0,09	4,94	5,13	D
Festuca 2015 60	4,91	10,31		5,07	3,82	4,40	0,67	9,47	K
ERZ-88	5,23	5,06	4,91	5,07	0,16	0,18	4,88	5,25	D
ERZ-79	4,92	4,97	5,34	5,08	0,23	0,26	4,81	5,34	D
Fo-Esk 172	4,79	7,2	4,74	5,58	1,41	1,62	3,96	7,20	K
Festuca 2015 58	4,76	5,09	7,23	5,69	1,34	1,55	4,15	7,24	K
Festuca 2012 26	6,13	6,03	6,01	6,06	0,06	0,07	5,98	6,13	?
ANK-2 FESTUCA 6	9,76	4,71	4,82	6,43	2,88	3,32	3,11	9,75	K
KRŞ-41 FESTUCA 98	4,81	4,7	10,07	6,53	3,07	3,54	2,99	10,06	K
Festuca 2015 26	4,88	4,87	9,83	6,53	2,86	3,30	3,23	9,82	K
SVS-15 FESTUCA 51	4,92	9,92	4,83	6,56	2,91	3,36	3,20	9,91	K
Festuca 2015 33	4,98	4,86	9,86	6,57	2,85	3,29	3,28	9,85	K
Fo-Esk 186	10,04	4,89	4,85	6,59	2,98	3,44	3,15	10,03	K
Fo-Küt 7	4,87	4,91	13,02	7,60	4,69	5,41	2,19	13,01	K
Festuca 2015 5	9,85	9,09	4,84	7,93	2,70	3,11	4,82	11,04	K

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan tek bitkilere ait çekirdek DNA içerikleri, hesaplanan popülasyon ortalamaları, standart sapma, güven aralıklarına ait değerler ve popülasyonların ploidi düzeyleri (Devamı)

SVS-25 FESTUCA 85	10,33	9,78	4,81	8,31	3,04	3,50	4,80	11,81	K
Festuca 2015 17	4,75	9,78	9,42	7,98	2,81	3,23	4,75	11,22	K
Fo-Esk 179	9,73	5,02	9,44	8,06	2,64	3,04	5,02	11,11	K
SVS-7 FESTUCA 24	9,05	9,41	9,57	9,34	0,27	0,31	9,04	9,65	T
Fo-Esk 166	9,42	9,34	9,54	9,43	0,10	0,12	9,32	9,55	T
15- KRŞ-35 FESTUCA 79	9,63	9,26	9,4	9,43	0,19	0,22	9,21	9,65	T
Fo-Küt 4	9,59	9,43	9,31	9,44	0,14	0,16	9,28	9,61	T
Festuca 2015 6	9,77	9,26	9,35	9,46	0,27	0,31	9,15	9,77	T
KRŞ-43 FESTUCA- 104	9,7	9,46	9,4	9,52	0,16	0,18	9,34	9,70	T
Festuca 2015 15	10,15	8,93	9,63	9,57	0,61	0,71	8,86	10,28	K
Fo-Esk 162	9,64	9,55		9,60	0,06	0,07	9,52	9,67	T
Festuca 2015 7	9,59	9,55	9,67	9,60	0,06	0,07	9,53	9,67	T
KYS-3 FESTUCA 6	9,72	9,39	9,71	9,61	0,19	0,22	9,39	9,82	T
Fo-Esk 181	9,66	9,7	9,51	9,62	0,10	0,12	9,51	9,74	T
KRŞ-36 FESTUCA 83	9,78	9,53	9,54	9,62	0,14	0,16	9,45	9,78	T
Festuca 2012 12	9,92	9,19	9,76	9,62	0,38	0,44	9,18	10,07	T
Fo-Esk 175	9,89	9,66	9,33	9,63	0,28	0,32	9,30	9,95	T

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan tek bitkilere ait çekirdek DNA içerikleri, hesaplanan popülasyon ortalamaları, standart sapma, güven aralıklarına ait değerler ve popülasyonların ploidi düzeyleri (Devamı)

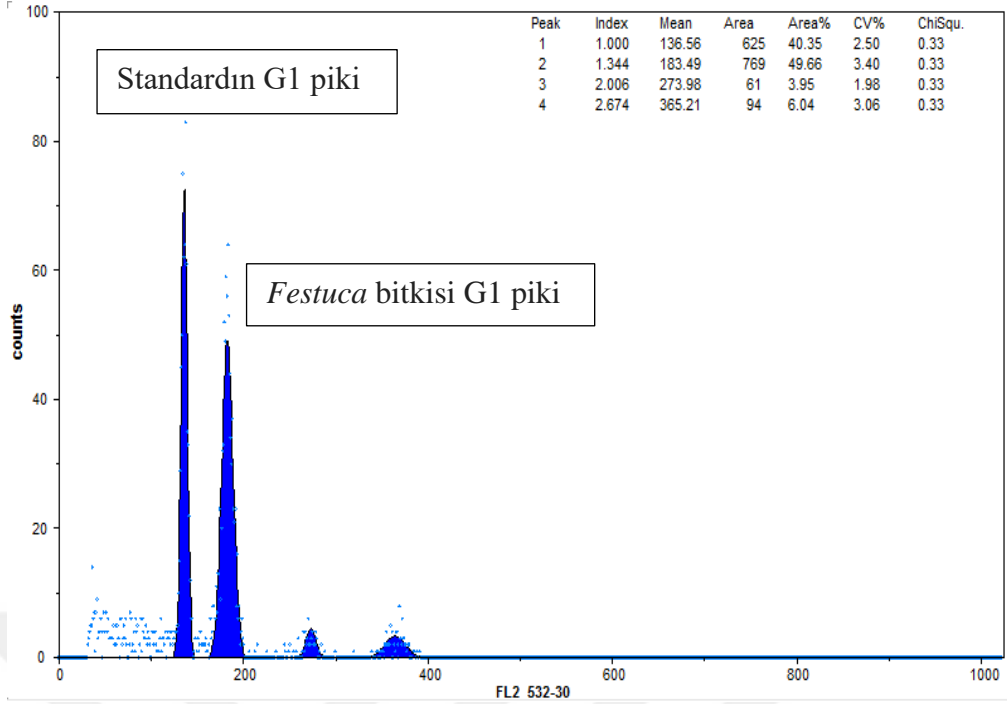
Festuca 2015 18	9,92	9,46	9,55	9,64	0,24	0,28	9,36	9,92	T
Fo-Esk 194	9,57	9,98	9,35	9,63	0,32	0,37	9,26	10,00	T
KRŞ-45 FESTUCA 107	9,66	9,8	9,43	9,63	0,19	0,22	9,41	9,85	T
Fo-Esk 163	9,81	9,7	9,43	9,65	0,20	0,23	9,42	9,87	T
Fo-Esk 165	10,01	9,52	9,46	9,66	0,30	0,35	9,32	10,01	T
Festuca 2015 4	9,69	9,59	9,7	9,66	0,06	0,07	9,59	9,73	T
Festuca 2015 16	10,26	9,38	9,41	9,68	0,50	0,58	9,11	10,26	T
Fo-Esk 191	9,9	9,72	9,48	9,70	0,21	0,24	9,46	9,94	T
Festuca 2015 1	10,14	9,28	9,73	9,72	0,43	0,50	9,22	10,21	T
Fo-Esk 164	9,69	9,86	9,65	9,73	0,11	0,13	9,60	9,86	T
Fo-Esk 169	9,97	9,71	9,54	9,74	0,22	0,25	9,49	9,99	T
Fo-Esk 188	9,97	9,88	9,37	9,74	0,32	0,37	9,37	10,11	T
KRŞ-37 FESTUCA 84 (KARIŞIK)	10,67	9,2	9,42	9,76	0,79	0,91	8,85	10,68	K
Festuca 2015 8	9,81	9,77	9,69	9,76	0,06	0,07	9,69	9,83	T
Festuca 2015 29	9,99	9,79	9,49	9,76	0,25	0,29	9,47	10,05	T
Festuca 2015 46	10,03	9,42	9,85	9,77	0,31	0,36	9,41	10,13	T
Fo-Esk 168	10,21	9,58	9,58	9,79	0,36	0,42	9,37	10,21	T

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan tek bitkilere ait çekirdek DNA içerikleri, hesaplanan popülasyon ortalamaları, standart sapma, güven aralıklarına ait değerler ve popülasyonların ploidi düzeyleri (Devamı)

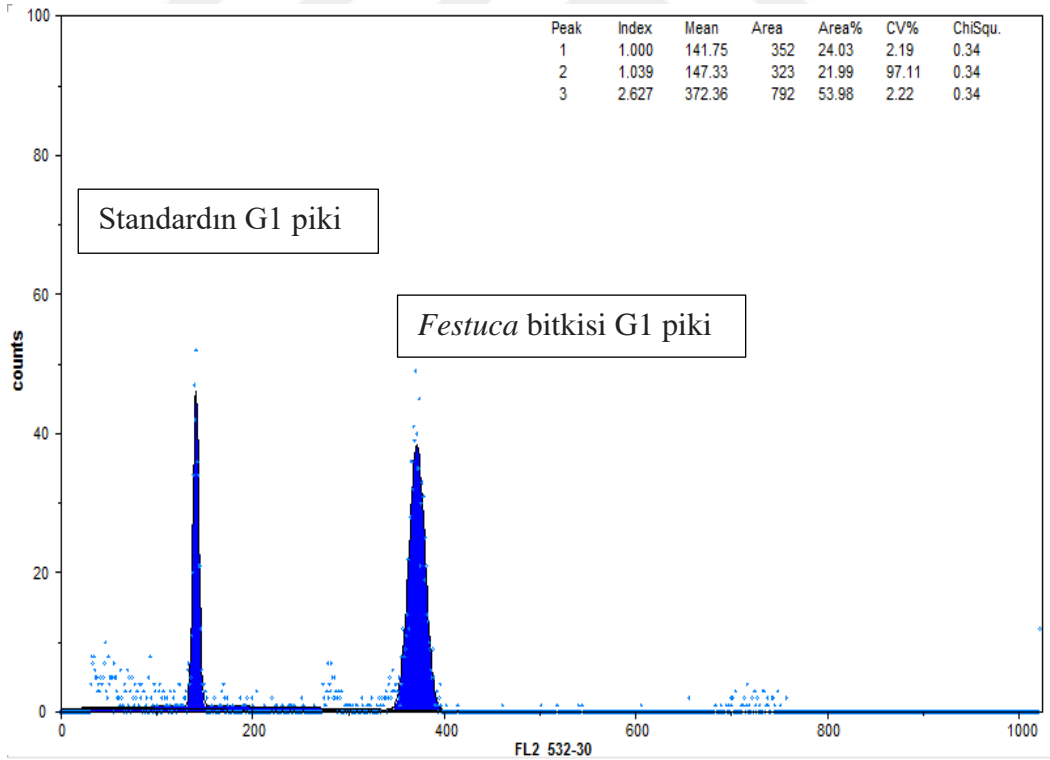
Festuca 2015 50	10,34	9,51	9,71	9,85	0,43	0,50	9,35	10,35	T
Festuca 2015 41	10,17	9,65	9,64	9,82	0,30	0,35	9,47	10,17	T
Festuca 2015 13	9,81	9,77	9,9	9,83	0,07	0,08	9,75	9,90	T
Fo-Esk 189	9,99	9,64	9,86	9,83	0,18	0,20	9,63	10,03	T
Festuca 2012 1	10,11	9,7	9,69	9,83	0,24	0,28	9,56	10,11	T
Fo-Esk 193	9,95	9,59	10,03	9,86	0,23	0,27	9,59	10,13	T
SVS-2 FESTUCA 7	10,09	10,19	9,31	9,86	0,48	0,56	9,31	10,42	T
Festuca 2015 14	10,25	9,67	9,66	9,86	0,34	0,39	9,47	10,25	T
Festuca 2012 16	9,96	9,83	9,82	9,87	0,08	0,09	9,78	9,96	T
Festuca 2015 72	9,91	9,98	9,75	9,88	0,12	0,14	9,74	10,02	T
Festuca 2015 9	10,27	9,77	9,67	9,90	0,32	0,37	9,53	10,27	T
Festuca 2015 11	9,75	10,15	9,87	9,92	0,21	0,24	9,69	10,16	T
Fo-Esk 174	10,24	9,64	9,9	9,93	0,30	0,35	9,58	10,27	T
Festuca 2012 2	9,98	9,88	9,96	9,94	0,05	0,06	9,88	10,00	T
Festuca 2015 44	10,3	9,72	9,81	9,94	0,31	0,36	9,58	10,30	T
SVS-22 FESTUCA 72	10,25	9,62	10	9,96	0,32	0,37	9,59	10,32	T
Festuca 2015 10	10,28	9,85	9,79	9,97	0,27	0,31	9,67	10,28	T

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan tek bitkilere ait çekirdek DNA içerikleri, hesaplanan popülasyon ortalamaları, standart sapma, güven aralıklarına ait değerler ve popülasyonların ploidi düzeyleri (Devamı)

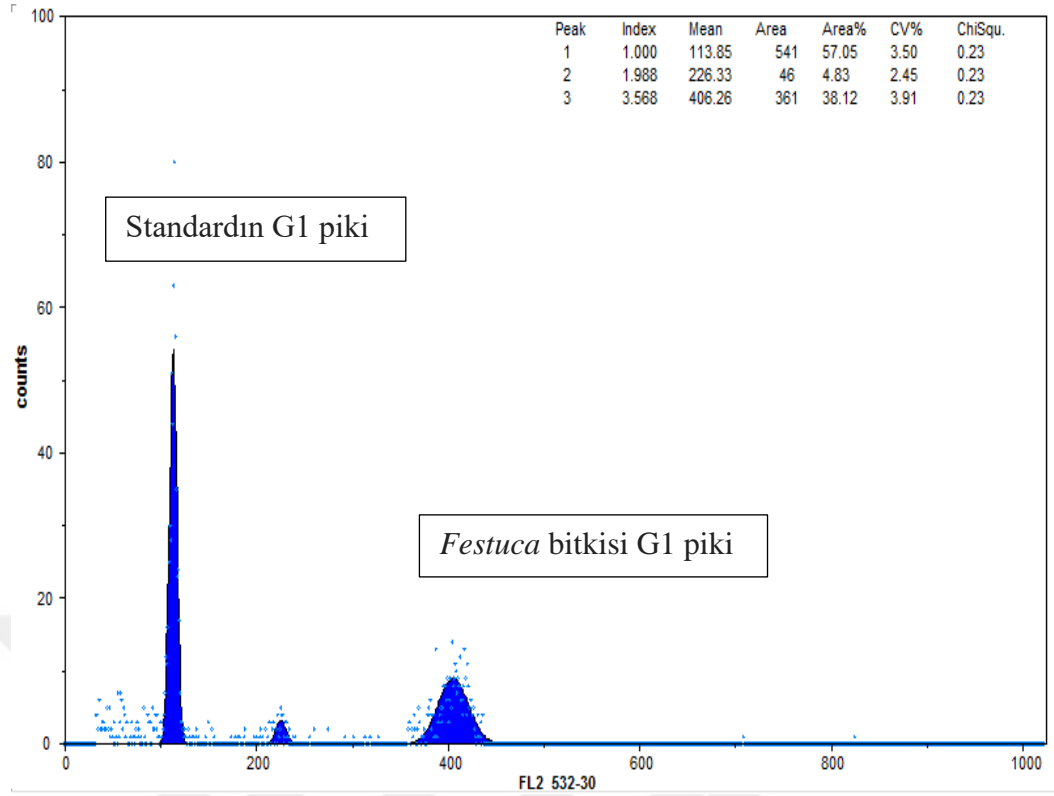
Fo-Esk 197	10,04	10,37	10	10,14	0,20	0,23	9,90	10,37	T
Festuca 2012 29	10,28	9,87	10,04	10,06	0,21	0,24	9,83	10,30	T
Fo-Esk 195	9,83	9,95	10,44	10,07	0,32	0,37	9,70	10,45	T
Festuca 2015 47	9,88	11,32	9,55	10,25	0,94	1,08	9,17	11,33	K
Festuca 2015 12	10,03	9,77	15,63	11,81	3,31	3,82	7,99	15,63	K
Festuca ovina (Chariot) 2015 87	12,67	13,16		12,92	0,35	0,40	12,52	13,31	H
Festuca ovina (Ridu) 2015 88	12,77	12,84	13,63	13,08	0,48	0,55	12,53	13,63	H
Festuca ovina (Durette) 2015 89	13,4	12,53	13,61	13,18	0,57	0,66	12,52	13,84	H
Festuca 2015 74	16,66	14,88	15,96	15,83	0,90	1,03	14,80	16,87	K
ERZ-25	18,89	17,99	19,52	18,80	0,77	0,89	17,91	19,69	Dekap
ERZ-71	19,69	19,22	19,2	19,37	0,28	0,32	19,05	19,69	Dekap



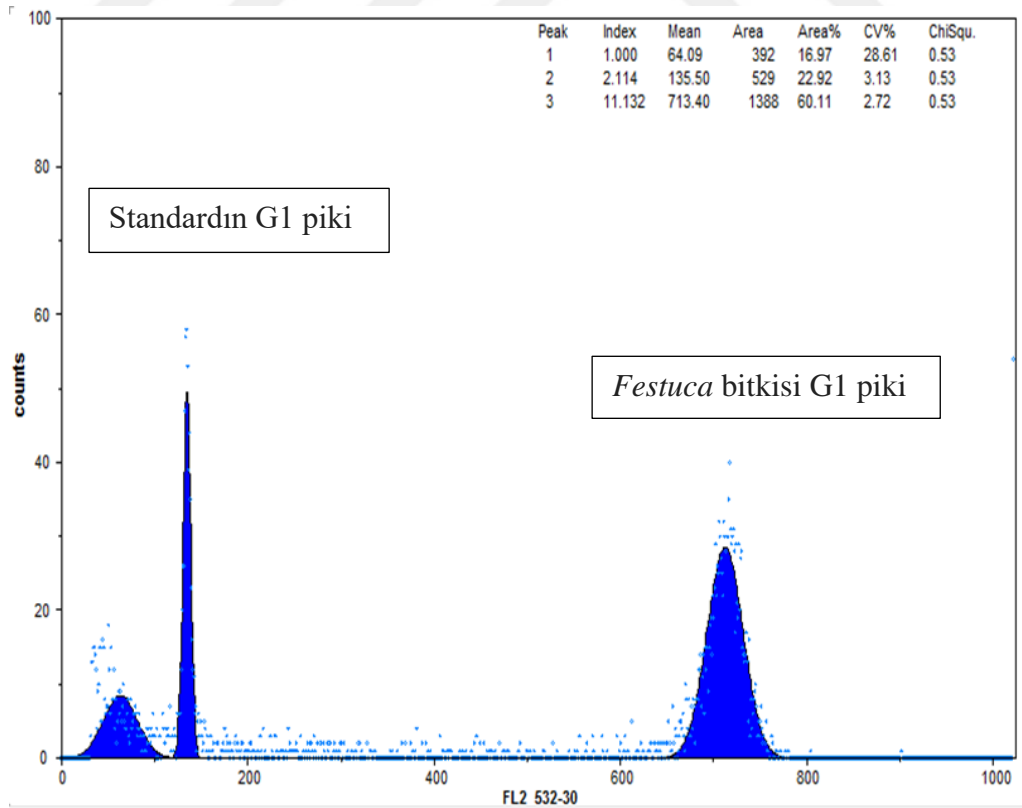
Şekil 4.1. Diploid *Festuca* spp. bitkisi ve standarda ait (*Vicia sativa*) G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



Şekil 4.2. Tetraploid *Festuca* spp. bitkisi ve standarda ait (*Vicia sativa*) G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



Şekil 4.3. Hexaploid *Festuca* spp. bitkisi ve standarda ait (*Vicia sativa*) G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları



Şekil 4.4. Dekaploid *Festuca* spp. bitkisi ve standarda ait (*Vicia sativa*) G1 piklerinin birbirlerine göre pozisyonları

Aynı popülasyona ait tek bitkilerin çekirdek DNA içeriklerine ait değerler kullanılarak hesaplanan standart sapma değerlerinin genellikle düşük olması çalışmada yapılan analizlerin güvenilirliğini göstermektedir. Bununla birlikte bazı popülasyonların standart sapma değerleri ise oldukça yüksek ($>0,7$) olduğu görülmüştür. Bu popülasyonlar dikkatli bir şekilde incelendiğinde farklı tür ya da ploidi düzeyine sahip bireyleri içerdikleri görülmüştür. Bu yüzden bu şekilde yüksek standart sapma değerlerine sahip 22 popülasyon karışık olarak kabul edilmiş ve ploidi düzeylerinin bulunduğu sütuna karışık anlamına gelen (K) harfi yazılmıştır.

Birinci grup içerisinde yer alan 148 popülasyonun ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri 4,69 ile 5,08 pg arasında değişmektedir. Bu grup içerisinden bir bitkide mikroskop ile yapılan kromozom sayımlarında 14 kromozom sayılmıştır. Yumak cinsinde temel kromozom sayısı $n=7$ olduğundan 1. grup içerisinde yer alan ve 2C ortalama çekirdek DNA içeriği 4,69 ile 5,08 pg arasında olan tüm popülasyonların diploid olduğu kabul edilmiştir.

İkinci grup içerisinde yer alan 50 popülasyonun ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri 9,34 ile 10,14 pg arasında değişmektedir. Gurubun 2C çekirdek DNA içeriği birinci grup ile karşılaştırıldığında tam iki misli olduğu görülmektedir. Bu durum grup içerisinde yer alan popülasyonların yüksek bir olasılıkla tetraploid olduğunu işaret etmektedir. Grubun ploidi düzeyini teyit etmek amacıyla gruptan bir bitkinin kromozomları sayılmış ve 28 olarak belirlenmiştir. Böylece 2. grup içerisinde yer alan ve ortalama 2C çekirdek DNA içeriği 9,34 ile 10,14 pg arasında olan tüm popülasyonların tetraploid olduğu kabul edilmiştir. Diğer taraftan birinci gurubun tam olarak iki katı DNA ya sahip olması bu gurubu oluşturan türün genomunun 1. gurubu oluşturan türün kromozomlarının katlanmasıyla meydana gelmiş bir ototetraploid ya da birinci gurubun genomuna ek olarak benzer genom hacmine sahip farklı bir türün genomunu içeren bir allotetraploid olduğunu işaret etmektedir.

Üçüncü grup içerisinde yer alan 3 popülasyonun ortalama 2C çekirdek DNA içerikleri 12,92 ile 13,18 pg arasında değişmektedir. Gurubun 2C çekirdek DNA içeriği birinci grup ile karşılaştırıldığında ise iki mislenden fazla ancak 3 mislenden daha az bir DNA miktarına sahip olduğu görülmektedir. Bu durum grup içerisinde yer alan popülasyonların yüksek bir olasılıkla hekzaploid olduğunu işaret etmektedir. Gurubun ploidi düzeyini teyit etmek amacıyla gruptan bir bitkinin kromozomları sayılmış ve 42 olarak belirlenmiştir. Böylece 3. grup içerisinde yer alan ve ortalama 2C çekirdek DNA içeriği 12,92 ile 13,18 pg arasında olan tüm popülasyonların hekzaploid olduğu kabul edilmiştir. Diğer taraftan grubun DNA içeriğinin birinci gurubun tam

olarak 3 misli olmaması gurubun hekzaploid genomunu oluşturan genomlardan en azından bir genomunun 1. ve 2. gurubu oluşturan türlerin genomlarından farklı olduğunu işaret etmektedir.

Dördüncü grup ise en küçük grup olup, ortalama 2C çekirdek DNA içeriği 18,80 ile 19,37 pg olan sadece 2 popülasyondan oluşmaktadır. Popülasyonların her ikisinde Erzurum'dan toplanmıştır. Grubun 2C çekirdek DNA içeriği birinci grup ile karşılaştırıldığında ise yaklaşık 4 misli DNA ya sahip olduğu görülmektedir. Bu durum grup içerisinde yer alan popülasyonların oktaploid olabileceğini işaret etmektedir. Ancak poliploid genomların hacminin her zaman onları oluşturan diploidlerin genom hacimlerinin aritmetik toplamına eşit olmadığı ve bazı cinslerde daha az bazı cinslerde ise daha fazla olduğu göz önünde bulundurulduğunda popülasyonların dekaploid de olabileceğini işaret etmektedir. Ancak sitolojik preparat hazırlamaya uygun kök ucu elde edilemediği için bu grupta kromozom saymak mümkün olamamıştır. Bununla birlikte daha önce laboratuvarımızda başka bir koyun yumağı koleksiyonu üzerinde yapılmış olan benzer bir çalışmada ortalama 2C çekirdek DNA içeriği 14,37 ile 15,05 pg DNA içeriğine sahip yumak popülasyonlarının $2n=56$ kromozom ile oktaploid oldukları belirlenmiştir (Savaş Tuna vd., 2016). Dördüncü gurubu oluşturan popülasyonların 15 ten çok daha yüksek bir DNA içeriğine sahip olmasından dolayı bu iki popülasyonun oktaploid yerine dekaploid ($2n=70$) oldukları kabul edilmiştir.

Çalışmamızda yapılan flow sitometrik ve sitolojik incelemelere göre ülkemizin İç ve Doğu Anadolu'nun farklı lokasyonlarındaki doğal alanlardan koyun yumağı olduğu düşünülerek toplanmış olan popülasyonların ploidi düzeylerinin diploid ($2n=14$) ile dekaploid ($2n=70$) arasında değiştiği görülmektedir. Elde edilen bu sonuçlar koyun yumağı için ploidi düzeyinin diploid ile dekaploid arasında değiştiğini bildiren ilk ve nispeten eski tarihli olan çalışmaların sonuçlarını teyit etmektedir (Vinall ve Hein, 1937; Huff ve Palazzo, 1998). Bununla birlikte Tzvelev (1976) koyun yumağı'nın diploid ($2n = 14$) ve tetraploid ($2n = 28$) olarak sadece iki farklı formunun olduğunu bildirmiştir. Hubbard (1984) ile Wilkinson ve Stace (1991) ise koyun yumağı ve kırmızı yumak (*F. rubra*) komplekslerinden oluşan narin (fine fescue species) yumak türlerinin çoğunun sadece tek bir ploidi düzeyine sahip olduğunu bildirmiştir. Son yapılan revizyonlara göre ise koyun yumağı türünün $2n=14$ kromozom ile diploid ploidi düzeyine sahip olduğu kabul edilmiştir. Koyun yumağı'nın $2n=28$ kromozoma sahip tetraploid sitotipinin ise koyun yumağının en yaygın alt türü *F. ovina* ssp. *hirtula*, olarak kabul edilmektedir (Jenkins, 1955; Wilkinson ve Stace, 1991).

Wilkinson ve Stace (1991) koyun yumağı'nın ploidi düzeyi ile ilgili olarak daha önce rapor edilmiş olan bu çeşitliliğin sebebinin çalışmaları yapan araştırmacıların çoğunun *koyun yumağı* ismini en geniş anlamıyla kullanması ve bugün artık ayrı türler olarak kabul edilen birçok taksonun bu isim altında toplanmış olması olduğunu bildirmiştir. Daha sonraki yıllarda yumak cinsi üzerinde yapılan revizyon çalışmaları ile koyun yumağı ve kırmızı yumak komplekslerinin içerisinde birbirine morfolojik olarak büyük benzerlik gösteren çok sayıda takson farklı tür adları teşhis edilmişlerdir.

Huff ve Plazzo (1998) daha önce kırmızı yumak ve koyun yumağı kompleksleri içerisinde yer alan ancak cins üzerinde yapılan revizyonlar da farklı tür isimleri almış ve yeşil alanların oluşturulmasında kullanılan *Festuca rubra* ssp. *rubra*, *Festuca trachyphylla*, *Festuca rubra* ssp. *commutata*, *Festuca brachylla*, *Festuca rubra* ssp. *litoralis*, *Festuca ovina*, *Festuca filiformis*, ve false sheep fescue gibi narin *Festuca* türlerini flow sitometri ile analiz etmiş ve türlerin ortalama 2C çekirdek DNA içeriklerini sırasıyla 14,27; 12,55; 11,91; 11,75; 10,89; 5,35; 4,84 ve 4,39 pg olarak belirlemişler ve bu sonuçlara göre türlerin ploidi düzeylerinin diploid ile octaploid arasında değiştiğini saptamışlardır. Araştırmacılar yaptıkları bu çalışmada koyun yumağı'nın 2C çekirdek DNA içeriğini ise 5,35 pg olarak belirlemiş ve diploid olduğunu saptamışlardır. Bununla birlikte çalışmada incelenen türlerden ikisinin daha oldukça yakın DNA içerikleri ile diploid olduğu belirlenmiştir.

Daha yakın tarihlerde Qiu vd. (2020) yaptığı çalışmada yine daha önce kırmızı yumak ve koyun yumağı kompleksleri içerisinde yer alan ve yeşil alanların oluşturulmasında kullanılan *F. brevipila*, *F. ovina*, *F. ovina*, *F. rubra* ssp. *litoralis*, *F. rubra* ssp. *fallax* gibi narin yumak türlerini flow sitometri ile analiz etmiş ve türlerin ortalama 2C çekirdek DNA içeriklerini sırasıyla 14,6; 9,6; 4,7; 16,1; 12,2 ve 12,9 olarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar elde ettikleri bu sonuçlara göre çalışmada inceledikleri narin yumak türlerinin ploidi düzeyinin diploid ($2n=14$) ile oktoploid ($2n=56$) arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca çalışmada yer alan diğer tüm türlerin tek bir ploidi düzeyine sahip iken koyun yumağı türünün ise 4,7 ve 9,6 pg DNA içerikleri ile hem diploid ($2n=14$) hem de tetraploid ($2n=28$) forma sahip olduğunu bildirmişlerdir. Burada tetraploid olarak rapor edilen formun daha önce Jenkins, (1955) ile Wilkinson ve Stace (1991) tarafından bildirildiği üzere *F. ovina* ssp. *hirtula* olması olasılığı göz ardı edilmemelidir.

Ülkemizde yapılmış bir başka çalışmada ise Savaş Tuna vd. (2016) koyun yumağı olarak toplanmış popülasyonların ortalama 2C çekirdek DNA içeriklerinin 4,51 ile 15,03 pg

arasında ve bu sonuçlara göre ploidi düzeylerinin ise diploid ile oktoploid arasında değiştiğini belirlemişlerdir.

Koyun yumağı ve diğer narin yumak türleri üzerinde daha önce yapılmış ve yukarıda tartışılmış olan çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda, çalışmamızdan elde edilen sonuçlar koyun yumağı olarak ülkemizin farklı bölgelerinden toplanmış olan 225 popülasyonun sadece koyun yumağı türüne ait olmadığı ve koleksiyonun morfolojik olarak benzer çok sayıda farklı narin (fine fescues) yumak türüne ait popülasyonlardan oluştuğunu işaret etmektedir. Çalışmamızda elde edilen bu sonuçlara göre diploid popülasyonların büyük çoğunluğunun koyun yumağı, tetraploidlerin ise alttür *F. ovina* ssp. *hirtula* olması olasılığı yüksektir. Ancak bu sonuçların klasik taksonomik yöntemler ile de teşhis edilmesi gerekmektedir.

Buna ek olarak narin yumak türlerinin özellikle de koyun yumağı gurubu içerisindeki türlerin taksonomik teşhis ve sınıflandırılmalarındaki zorluk göz önünde bulundurulduğunda koleksiyonun en kalabalık gruplarını oluşturan diploid ve tetraploidlerin sadece tek bir tür ya da alt türe ait olmayabileceği bariz bir şekilde görülmektedir. Ortalama 2C çekirdek DNA içeriğinin diploid popülasyonlar içerisinde 4,69 ile 5,08 pg, tetraploidler arasında ise 9,34 ile 10,14 pg gibi geniş bir aralıkta değişmesi bunu doğrulamakta ve grupların içerisindeki tür çeşitliliğini işaret etmektedir. Diğer bir deyişle bu grupların birden fazla diploid ve tetraploid tür içeriyor olması olasılığı yüksektir. Tüm bunlara ek olarak narin yumakların doğada bir arada bulunmaları, yabancı tozlaşmaları ve kendi aralarında kolaylıkla melezlenebildikleri göz önünde bulundurulduğunda popülasyonların içerisinde çok sayıda hibrit bitkininde bulunabileceğini de söylemek mümkündür. Bu durum gruplar (diploid ve tetraploid) içerisinde çekirdek DNA içeriği bakımından gözlenen geniş varyasyonunun ana kaynağı olarak görülebilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Türkiye'nin farklı coğrafi bölgelerinden koyun yumağı olarak toplanmış 225 popülasyonunun flow sitometri ile karakterize edildiği bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre incelenen yumak koleksiyonu çekirdek DNA içeriği bakımından oldukça geniş bir varyasyona sahiptir. Popülasyonların ploidi düzeyleri diploid ile dekaploid arasında değişmektedir. Cinsin son revizyonlarında koyun yumağının $2n = 14$ kromozom ile diploid olarak kabul edildiği göz önünde bulundurulduğunda çalışmada incelenen yumak koleksiyonun sadece koyun yumağı türüne ait popülasyonlardan oluşmadığı ve aslında çok sayıda farklı narin yumak türüne ait popülasyondan oluştuğu ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle koleksiyonda yer alan popülasyonların bir araştırma programına dahil edilmeden önce ploidi düzeylerinin göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Bu anlamda çalışmadan elde edilen sonuçlar bu yumak koleksiyonunu araştırma programlarında kullanacak olan araştırmacılar için yararlı olacak ve araştırmacıların işlerini kolaylaştırarak çalışmalarının daha kısa sürede ve başarılı bir şekilde tamamlanmasına katkı sağlayacaktır. Diğer taraftan çalışmadan elde edilen sonuçlar doğadan yeni toplanan yumak popülasyonlarının bir araştırma ya da ıslah projesine dahil edilmeden önce tür teşhislerinin yapılarak ploidi düzeylerinin belirlenmesinin ne kadar önemli olduğunu gözler önüne sermektedir. Tüm bunlara ek olarak çalışmadan elde edilen sonuçlar flow sitometrinin taksonomisi sorunlu ve birden fazla ploidi düzeyine sahip cinslerin türlerine ait genetik kaynakların karakterizasyonunda nasıl kullanılabileceğini gösteren referans niteliğinde başarılı bir örnek teşkil etmektedir.

KAYNAKLAR

- Aiken, S.G. and Consaul, L.L. (1995). Leaf cross sections and phyto geography: a potent combination for identifying members of *Festuca* subgg. *Festuca* and *Leucopoa* (*Poaceae*), occurring in North America. *American Journal of Botany*, 82: 1287–1299.
- Arumuganathan, K. and Earle, E.D. (1991). Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Molecular Biology Reporter*, 93, 208-219. doi: 10.1007/BF02672069
- Barkworth, M.E., Anderton, L.K., Capels, K.C., Long, S. and Piep, M.B. (2007). Manual of Grasses for North America. *Intermountain Herbarium and Utah State University Press*, Logan, UT.
- Bennett, M.D. and Leitch, I.J. (2004). Angiosperm DNA C-values database <http://www.rbgekew.org.uk/cval/homepage.html>.
- Bonos, S.A. and Huff, D.R. (2013). *Cool-season grasses: Biology and breeding*. Turf Biology, Use and Management, 56: 591-660.
- Brummer, E.C, Cazcarro, P.M and Luth, D. (1999). Ploidy determination of alfalfa germplasm accessions using flow cytometry. *Crop Sciences*, 39: 1202.
- Casler, M.D., Undersander, D.J., Fredericks, C., Combs, D.K., and Reed, J.D. (1998). An on-farm test of perennial forage grass varieties under management intensive grazing. *Journal of Production Agriculture*, 11, 92–99.
- Demiroğlu, G., Geren, H., Kir, B. and Avcioğlu, R. (2010). Performances of some cool season turfgrass cultivars in Mediterranean environment: II. *Festuca arundinacea* Schreb., *Festuca ovina* L., *Festuca rubra* spp. *rubra* L., *Festuca rubra* spp. *trichophylla* Gaud and *Festuca rubra* spp. *commutata* Gaud. *Turkish Journal of Field Crops*. 15(2): 180-187.
- Fitzgerald, A. (2018). Polyploidy in the *Festuca ovina* aggregate (Sheep's-fescue) in Ireland [Dublin University Trinity Colloge]. <https://www.researchgate.net/publication/327670210>.
- Fridley, J. D. and Grime, J. P. (2010). Community and ecosystem effects of intraspecific genetic diversity in grassland microcosms of varying species diversity. *Ecology Society of America*, 91(8): 2272-2283.
- Fuente, V. de la and Ortunez, E. (2000). Nueva especie de *Festuca* L. seccio'n *Festuca* (*Poaceae*) en la Península Ibe'rica. *Lazaroa*, 21: 3–6.
- Garnatje, T., Garcia, S., Vilatersana, R., and Vallès, J. (2006). Genome size variation in the genus *Carthamus* (*Asteraceae*, *Cardueae*): systematic implications and additive changes during allopolyploidization. *Annual of Botanical*, 97(3), 461–467. doi: 10.1093/aob/mcj050.
- Garnatje, T., Catalán, P., Inda, L. A., Vallès, J., and Pyke, S. (2023). Genome size of grass *Festuca* mountain species from the southwestern European Pyrenees: variation, evolution, and new assessments. *Plant Systematics and Evolution*, 309(4). doi : 10.1007/s00606-023-01867-x

- Gulsen, O., Sever-Mutlu, S., Mutlu, N., Tuna, M., Karaguzel, O., Shearman, R.C., Riordan, T.P., and Heng-Moss, T.M. (2009). Polyploidy creates higher diversity among *Cynodon* accessions as assessed by molecular markers. *Theoretical and Applied Genetics*. 118(7), 1309–1319. doi: 10.1007/s00122-009-0982-9.
- Hackel, E. (1882). *Monographia Festucarum Europearum*. Kassel, Berlin, T. Fischer.
- Hahn, D., Morales, A., Velasco-Cruz, C., and Leinauer, B. (2021). Assessing competitiveness of fine fescues (*Festuca* L. spp.) and tall fescue (*Schedonorus arundinaceus* (schreb.) dumort) established with white clover (*Trifolium repens* L., wc), daisy (*Bellis perennis* L.) and yarrow (*Achillea millefolium* L.). *Agronomy*, 11(11). doi: 10.3390/agronomy11112226
- Heslop-Harrison, J.S. (1995). Flow cytometry and genome analysis. *Probe*, 5:14-17.
- Hitchcock, A. S. (1950). *Manual of the Grasses of the United States*. States Department Of Agriculture Dover Publication, Volume: 1. Washington, D.C.
- Hubbard, C.E. (1984). *Grasses: A guide to their structure, identification, uses, and distribution in the British Isles*. 3rd ed. revised by J.C.E. Hubbard, Penguin Books, Middlesex, England
- Hultquist, S.J., Vogel, K.P., Lee, D.J., Arumuganathan, K. and Kaeppler, S. (1997). DNA content and chloroplast DNA polymorphisms among switchgrasses from remnant midwestern prairies. *Crop Sciences*, 37:595-598.
- Huff, D.R. and Palazzo, A.J. (1998). Fine fescue species determination by laser flow cytometry. *Crop Science*, 38, 445–450. doi: 10.2135/cropsci1998.0011183X003800020029x.
- Jafari, H., and Naderi, M. (2023). Flow cytometry-based ploidy level analysis and ecological adaptations in *Festuca* species. *Journal of Environmental and Agricultural Sciences*, 32(3), 199-205.
- Jenkins, R.M. (1955). A summary of fish population studies conducted during 1954 at Ardmore City Lake, Stringtown Sub-Prison Lake, Fairfax City Lake, and Pawhuska City Lake. Okla. *Fisheries Research Laboratory Report*, 48:31.
- Karp A. (1991). *Cytological techniques*. (Ed: K. Lindsey), *Plant tissue culture manual*. Kluwer, Dordrecht, the Netherlands. P. C4:1-13.
- Khalaki, M.A., Jahantab, E., Abdipour, M., Moameri, M., and Ghorbani, A. (2022). An efficient estimation of crop performance in sheep fescue (*Festuca ovina* L.) using artificial neural network and regression models. *Scientific Reports*, 12(1). doi :10.1038/s41598-022-25110-8.
- Koçyiğit, M., and Tuna, M. (2016). Taxonomic remarks on the genus *Sternbergia* L. (Amaryllidaceae) in Turkey based on leaf anatomy, karyosystematic analysis and nuclear DNA content. *Phytotaxa*. 265(3), 238–250. doi: 10.11646/phytotaxa.265.3.4.
- Lewitsky, G.A. and Kuzmina, N.E. (1927). Kariologicheskii metod v sistematike i filogenetike roda *Festuca* (podr. Eu-*Festuca*). (Karyological investigations on the systematics and phylogenetics of the genus *Festuca*). *Trudy po Prikladnoi Botanike i Seleksii*, 13: 3-36.

- Litardière, R. DE. (1923). Contribution l'étude des *Festuca* (subgen. Eu-Festuca) du nord de la France (Nord, Pas-de-Calais) et de Belgique. *Bulletin of the Société royale de botanique de Belgique*. 55: 92–133, 149–154.
- Lu, K., Kaepler, S.M., Vogel, K.P., Arumuganathan, K. and Lee, D.J. (1998). Nuclear DNA content and chromosome numbers in switchgrass. *Great Plains Research* 8 (Fall 1998): 269-80
- Markgraf-Dannenberg, I. (1985). *Festuca*. – In: P.H. Davis, *Flora of Turkey and East Aegean Islands*. 9: 400-442. *Edinburgh University Press*, Edinburgh.
- Martínez-Sagarra, G., Casimiro-Soriguer, F., Castro, S., Loureiro, J. and Devesa, J. A. (2022). Cytogenetic, Morphometric, and Ecological Characterization of *Festuca indigesta* Boiss. in the Southeast of Spain. *Plants*, 11:693. doi: org/10.3390/plants11050693
- Naganowska, B., Wolko, B., Sliwinska, E. and Kaczmarek, Z. (2003). Nuclear DNA content variation and species relationships in the genus *Lupinus* (Fabaceae). *Annual Botanical*, 92: 349–355.
- Ogle, D., St. John, L., Stannard, M. and Holzworth, L. (2009). Grass, grass-like, forb, legume and woody species for the Intermountain West. *USDA-NRCS, ID-TN 24*. Boise, ID
- Ogle, D., Stannard, M., Scheinost, P. and John, S. L. (2010). Plant guide for sheep fescue (*Festuca ovina* L.). USDA Natural Resources Conservation Service, *Idaho and Washington Plant Materials Program*.
- Ohri D., (1998). Genome size variation and plant systematics. *Annals of Botany*, 82: 750-812.
- Orchard, M.J. and Zonneveld, J.P. (2009) The lower triassic sulphur mountain formation in the Wapiti Lakearea: Lithostratigraphy, Conodont Biostratigraphy, and a New Biozonation for the Lower Olenekian (Smithian). *Canadian Journal of Earth Sciences*, 46, 757-790.
- Özpinar, H., Sabanci, C.O., Acar, A.A., Aksu, S. and Niksarli, İ. F. (2014). Evaluation of *Fescue* (*Festuca arundinacea* Schreb. and *Festuca rubra* L.) populations grown under Aegean region conditions, *Anadolu Journal of Aegean Agricultural Research Institute*, 24(2): 32 – 40.
- Pecinka, A., Suchankova, P., Lysak, M.A., Travnicek, B. and Dolezel, J. (2006). Nuclear DNA content variation among Central European *Koeleria* taxa. *Annals of Botany*, 98:117-122
- Qiu, Y., Hamernick, S., Ortiz, J. B., and Watkins, E. (2020). DNA content and ploidy estimation of *Festuca ovina* accessions by flow cytometry. *Crop Science*, 60(5), 2757–2767. doi: 10.1002/csc2.20229.
- Rayburn, A. L., Auger, J. A., Benzinger, E. A. and Hepburn, A. G. (1989). Detection of intraspecific dna content variation in *Zea mays* L. by flow cytometry. *Journal of Experimental Botany*, 40(11), 1179–1183. doi: 10.1093/jxb/40.11.1179
- Savaş Tuna, G., Keleş, H., Göçmen, D., Güleriyüz, V., Nizam, İ., Cabi, E., Yazıcı, A., Çakal, Ş., ve Tuna, M. (2016). Flow sitometri ile çok yıllık buğdaygil yem bitkisi genetik kaynaklarının

karakterizasyonu. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 25(ÖZEL SAYI-2), 7–7. doi: 10.21566/tarbitderg.281591.

- Savaş Tuna, G., Duyu, G., Uzun, K., Yücel, G., and Tuna, M. (2017). Determination of nuclear DNA content and ploidy of *Hypericum perforatum* L. accessions collected from Western Turkey. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 23(4), 395–403. doi:10.15832/ankutbd.385863.
- Shi, Z., Liang, G., Liu, W., Li, S. and Qin, Y. (2024). Optimization of nitrogen and phosphorus fertilization for enhanced forage production and quality of *Festuca Krylovianacv.* Huanhu artificial grassland in alpine regions. *Heliyon*, 10(15). doi:10.1016/j.heliyon.2024.e35116
- Šmarda, P. (2006). DNA ploidy levels of Romanian fescues (*Festuca* L., Poaceae), measured in living plants and herbarium specimens. *Folia Geobotanical*. 41: 417–432.
- Šmarda, P. and Bureš, P. (2006) Intraspecific DNA content variability in *Festuca pallens* on different geographical scales and ploidy levels. *Annals of Botany*, 98: 665–678.
- Šmarda, P. and Staněik, D. (2006): Ploidy level variability in South American fescues (*Festuca* L., Poaceae): use of flow cytometry in up to 5 1/2-year-old caryopses and herbarium specimens. *Plant Biology*, 8:73–80, Stuttgart.
- Šmarda, P., Bures, P., Horová, L., Foggi, B., and Rossi, G. (2008). Genome size and GC content evolution of *Festuca*: ancestral expansion and subsequent reduction. *Annual Botanical*. 101(3), 421–433. doi: 10.1093/aob/mcm307.
- Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. (1960). *Principles and procedures of statistics with special reference to the biological sciences* (4th ed.) (187-287). New York: McGraw-Hill Book Company.
- Tuna, M., Vogel, K.P., Arumuganathan, K., and Gill, K. S. (2001). DNA content and ploidy determination of bromegrass germplasm accessions by flow cytometry. *Crop Science*, 41(5), 1629. doi:10.2135/cropsci2001.4151629x.
- Tuna M., Deepak K.K., Shresta M.K., Arumuganathan K. and Golan-Goldhirsh A., (2004). Characterization of *Dactylis polpulations* collected from natural ranges of Thrace Region of Turkey based on ploidy and RAPD analysis. *Euphytica*, 135: 39-46
- Turhan, Ş. (1996). *Erzurum Yöresinde Doğal Olarak Yetişen Koyun Yumağı (Festuca ovina L.) Bitkilerinin Bazı Sitolojik, Fenolik, Morfolojik ve Kimyasal Özelliklerinin İncelenmesi* (Yüksek Lisans Tezi), Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Tzvelev, N.N. (1976). Poaceae of the USSR. Nauka, Leningrad, (In Russian.) Translated as “Grasses of the Soviet Union Zlaki SSSR”. *Published for Smithsonian Institution Libraries and National Science Foundation*, 788 p.
- Wilkinson, M.J. and C.A. Stace, (1991). A new taxonomic treatment of the *Festuca ovina* L. aggregate (Poaceae) in the British Isles. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 106(4): p. 347-397.

- Vinall, H. N. and Hein, M. A. (1937) *Breeding miscellaneous grasses. In USDA Yearbook of agriculture*. U. S. Government Publishing. Office, Washington, DC.
- Vižintin, L. and Bohanec, B. (2008). Measurement of nuclear DNA content of the genus *Trifolium* L. as a measure of genebank accession identity. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55, 1323-1334.
- Vogel, P.K., Arumuganathan, K., and Jensen, K.B. (1999). Nuclear DNA content of perennial grasses of the Triticeae. *Crop Science*, 39(3), 661–667. doi: 10.2135/cropsci1999.0011183X003900020009x.
- Zhang, Y., Li, X., Wang, W., and Wang, X. (2019). Genetic diversity and environmental adaptation in *Festuca* species. *Environmental and Experimental Botany*, 162, 145–154.

