

68139

**DİPLOİD VE OTOTETRAPLOİD PLANTAGO MEDIA'DA DNA  
MİKTARLARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

**DOKTORA TEZİ**

**SEMA TÜLAY ÖNER**

**ŞUBAT 1997**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**


Sema Tülay ÖNER tarafından hazırlanan DİPLOİD VE AUTOTETRAPLOİD PLANTAGO MEDIA'DA DNA MİKTARLARININ KARŞILAŞTIRILMASI adlı bu tezin doktora tezi olarak uygun olduğunu onayladı.



Prof. Dr. Orhan ARSLAN  
Tez Yöneticisi


Bu çalışma jürimiz tarafından Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

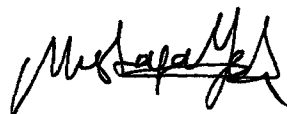
Sınav Jürisi

Başkan Prof. Dr. Mustafa KURU 

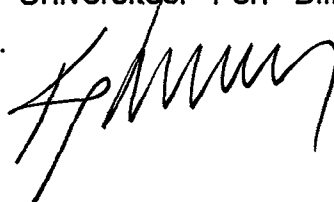
Üye: Prof. Dr. Orhan Arslan 

Üye: **Prof. Dr. Kemal SOLAK** 

Üye: Doc. Dr. Turan Güven 

Üye: Doc. Dr. Mustafa YEL 

Bu Tez, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Esaslarına Uygundur.



**DİPLOİD VE AUTOTETRAPLOİD PLANTAGO MEDIA'DA DNA  
MİKTARLARININ KARŞILAŞTIRILMASI  
(Doktora Tezi)**

**SEMA TÜLAY ÖNER**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
ŞUBAT 1997**

**ÖZET**

Bu çalışma; *Plantago media* ve onun farklı ploidi düzeylerindeki ilk karşılaştırmalı DNA miktarı analizi olmakla birlikte, aynı zamanda Genus *Plantago* 'da da ilk DNA miktarı analizi olma özelliği taşımaktadır. Araştırma sonuçları *P. media*'nin autotetraploid tabiat arz ettiğini destekler yöndedir.

Diploid *P. media* larda ortalama DNA miktarı  $9.05 \pm 0.49$  pg olarak hesaplanmış, bu bitkiler arasında çok yaygın olmasa da bir DNA miktarı varyasyonu tesbit edilmiştir.

Autotetraploid bitkilerde ortalama DNA miktarı  $15.57 \pm 0.27$  pg olup, bu değer diploid ataların yaklaşık olarak 1.72 katıdır. Autotetraploidlerin varyasyonu ise, diploidlerin varyasyonuna kıyasla daha düşük bulunmuştur.

Yapay tetraploidlerin gözlenen DNA miktarı  $18.10 \pm 0.27$  pg olup, bu değer beklenen değere (18.23 pg) yakınlık arz etmektedir. Yapay tetraploidlerin bu durumu diploidlerin ve autotetraploidlerin sonuçlarıyla karşılaştırıldığında, ototetraploidlerin ilk ortaya çıkışlarından günümüze kadar bir DNA miktarı kaybına uğradıkları tesbit edilmiştir. Bu azalma meydana gelirken, azalmadaki varyasyonun düşük tutulduğu sonucuna varılmıştır.

**A COMPARATIVE STUDY ON DNA AMOUNT OF DIPLOID AND  
AUTOTETRAPLOID PLANTAGO MEDIA**

**(Ph.D Thesis)**

**SEMA TÜLAY ÖNER**

**GAZI UNIVERSITY  
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY  
February, 1997**

**ABSTRACT**

This study is first to reveal DNA analysis not only in different ploidy levels of *P. media*, but also in genus *Plantago*. DNA amount data support the autotetraploid nature of *P. media*.

Mean DNA value of diploids was found to be  $9.05 \pm 0.49$  pg. Results suggest that, diploids are variable in their DNA amounts.

In autotetraploids, mean DNA amount was observed to be  $15.57 \pm 0.27$  pg. This figure was found to be 1.72 times higher than the mean value of diploid progenitors. Autotetraploids were less variable in their DNA amounts in comparison with diploids.

Mean DNA amount in induced tetraploids was estimated as  $18.10 \pm 0.27$  pg being very close to the expected value (18.23 pg). A comparison was made on mean DNA values of induced tetraploids with diploids and autotetraploids and it is concluded that, the selection mechanism acts for reduction, but with a low variation, in DNA amount of autotetraploids.

## TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın yurd dışında gerekleşmesi için gerekli mali desteği sağlayan T.C. Gazi Universitesi yöneticilerine yürekten teşekkür ederim. Bilimsel alışmalarımda kariyerimin başından beri desteğini hiç bir zaman esirgemeyen danışman Hocam Prof. Dr. Orhan ARSLAN'a teőekkürü bir borç bilirim. Çalışmalarımın yürütölmesi ve yazımı sırasında benden sabır ve desteğini esirgemeyen ailemin bütön bireyelerine teşekkür ederim. Ayrıca, araştırma materyallerini temin etme nezaketinde buldukları için Dr. Peter Van DİJK'e (Hollanda, Groningen Üniversitesi, Genetik Bölümü) Őükranlarımı sunarım.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET.....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TABLoların LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ .....	vii
1. GİRİŞ .....	1
2. MATERYAL VE METOD.....	17
2.1. Materyal .....	17
2.1.1. Materyal bitkinin genel özellikleri .....	17
2.2. Metod .....	22
2.2.1. Metodun teorisi .....	22
2.2.2. Materyalin ve preparatların hazırlanması .....	23
2.2.3. Mikrospektrofotometrik ölçüm işleminin uygulanması .....	25
2.3. İstatistik Analiz.....	27
3. BULGULAR.....	28
3.1. Diploid Bitkilerde DNA Miktarı Ölçümleri .....	28
3.2. Ototetraploid Bitkilerde DNA Miktarı Ölçümleri.....	41

3.3. Kolşisinle İndüklenmiş Tetraploid Bitkilerde DNA Miktarı Ölçümleri.....	54
4. TARTIŞMA VE.ÖNERİLER .....	67
4.1. Tartışma.....	67
4.2. Öneriler.....	75
KAYNAKLAR.....	76
ÖZGEÇMİŞ.....	86



**TABLULARIN LİSTESİ**

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa No</b>
2.1.Çalışmada kullanılan diploid, ototetraploid ve yapay tetraploid bitkilerin kod numaraları, kromozom sayıları ve köken aldıkları bölgeler.....	18
3.1. <i>P. media</i> 'nın yedi diploid bitkisinde pg olarak ortalama (2C) DNA miktarları.....	32
3.2. <i>P. media</i> 'nın yedi ototetraploid bitkisinde pg olarak ortalama (4C) DNA miktarları .....	45
3.3.Kolşisinle indüklenmiş yedi tetraploid <i>P. media</i> bitkisinde pg olarak ortalama (4C) DNA miktarları .....	58

## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa No
3.1. Yedi <i>P. media</i> diploid bitkisinde (2C) DNA miktarlarının yığılımını gösteren histogram.....	33
3.2. 2C70-2 kod numaralı diploid bitkide (2C) DNA miktarını gösteren histogram.....	34
3.3. 1178-B kod numaralı diploid bitkide (2C) DNA miktarını gösteren histogram.....	35
3.4. H8 kod numaralı diploid bitkide (2C) DNA miktarını gösteren histogram.....	36
3.5. 2C58-3 kod numaralı diploid bitkide (2C) DNA miktarını gösteren histogram.....	37
3.6. A18C kod numaralı diploid bitkide (2C) DNA miktarını gösteren histogram.....	38
3.7. LA7D kod numaralı diploid bitkide (2C) DNA miktarını gösteren histogram.....	39
3.8. Ural-2 kod numaralı diploid bitkide (2C) DNA miktarını gösteren histogram.....	40
3.9. Yedi ototetraploid <i>P.media</i> bitkisinde (4C) DNA miktarını gösteren histogram.....	46

3.10. Hg kod numaralı ototetraploid bitkide (4C) DNA miktarını gösteren histogram.....	47
3.11. FO4X-1 kod numaralı ototetraploid bitkide (4C) DNA miktarını gösteren histogram.....	48
3.12. C58-2 kod numaralı ototetraploid bitkide (4C) DNA miktarını gösteren histogram.....	49
3.13. A 14 kod numaralı ototetraploid bitkide (4C) DNA miktarını gösteren histogram.....	50
3.14. A18-12-A kod numaralı ototetraploid bitkide (4C) DNA miktarını gösteren istogram.....	51
3.15. H16 kod numaralı ototetraploid bitkide (4C) DNA miktarını gösteren histogram.....	52
3.16. LA7-11-A kod numaralı ototetraploid bitkide (4C) DNA miktarını gösteren histogram.....	53
3.17. Kolşisinle indüklenmiş yedi tetraploid <i>P. media</i> bitkisinde (4C) DNA miktarını gösteren histogram .....	59
3.18. C70-3 kod numaralı yapay tetraploid bitkide (4C) DNA miktarını gösteren histogram.....	60
3.19. C70-2 kod numaralı yapay tetraploid bitkide (4C) DNA miktarını gösteren histogram.....	61
3.20. C40 kod numaralı yapay tetraploid bitkide (4C) DNA miktarını gösteren histogram.....	62

- 3.21. C58-3 kod numaralı yapay tetraploid bitkide (4C) DNA miktarını gösteren histogram.....63
- 3.22. C58-5 kod numaralı yapay tetraploid bitkide (4C) DNA miktarını gösteren histogram.....64
- 3.23. C58-2 kod numaralı yapay tetraploid bitkide (4C) DNA miktarını gösteren histogram.....65
- 3.24. C65 kod numaralı yapay tetraploid bitkide (4C) DNA miktarını gösteren histogram.....66

## 1. GİRİŞ

Genomik materyal artışı birçok filogenetik grup için önem taşımaktadır (Riley and Anilionis, 1978; Sparrow and Nauman, 1973; Stebbins, 1950; 1971; Levin, 1983). Poliploidi adı verilen bu genomik artış, ya DNA/kromozom oranında (Kriptik poliploidi), ya da kromozomların tümünde görülen bir artışla (konvensiyonel poliploidi) meydana gelebilmektedir.

Poliploidi yüksek bitkilerde oldukça yaygındır (White, 1978). Hayvanlarda ise nadir görülmektedir (Stebbins, 1971). Çok yıllık bitkilerde tek yıllıklara nazaran daha yaygın olarak rastlanılmaktadır (White, 1978). Çiçekli bitkilerde poliploidlerin oranları çeşitli araştırmacılar tarafından %30-35 (Stebbins, 1971) ve %47 (Grant, 1963) olarak hesaplanmıştır. En yüksek poliploidi düzeyi dikotiledonlardan *Acalypha wilkesiana*' da  $32n$  olarak, monokotiledonlardan *Poa littorosa*' da  $38n$  olarak bildirilmiştir (Gottschalk, 1978).

Grant (1963)'in iddiasına göre, haploid kromozom sayısı  $n=13$ ' ün üstünde olan canlılar poliploid kökenlidirler  $n=13$  ve daha düşük kromozom sayısına sahip olanlar ise predominant olarak diploiddirler. Goldblatt (1980) ise, haploid kromozom sayısı  $n=11$  ve yukarısında olan çiçekli bitkilerin oluşum süreçlerinde poliploidi geçirdiklerini, kromozom sayısı  $n=10$  ve  $n=9$  olanların çoğunun da daha yüksek temel kromozom

sayısına sahip atalardan anöplöid olarak meydana gelebilecekleri görüşünü savunmuştur. Lewis (1980a) çift çeneklilerde, Goldblatt (1980) tek çeneklilerde olmak üzere çiçekli bitkilerin %70-80'ninin oluşum süreçlerinde poliploidi geçirdikleri fikrini savunmuşlardır.

Son yıllarda hayvanlar alemi için de benzer bir durumun olabileceği görüşü yaygınlık kazanmıştır ve null alellerin buna bir delil teşkil edebileceği fikri doğmuştur. Örneğin *Catastomidae* ve *Salmonidae* familyalarının yaklaşık 50-100 milyon yıl önce poliploidi geçirerek *Cyprinidae*'lerden meydana geldiği düşünülmektedir (Uyeno and Smith, 1972; Shultz, 1980; Ohno, 1973).

Somatik kromozomların mitozda iki katına çıkması veya mayozda kromozomların ayrılamaması ve farklı kutuplara çekilememesi poliploidinin kaynağını oluşturur. Kromozom sayısı yarıya indirgenmemiş ve dolayısıyla diploid olan iki tane gamet birleştiğinde tetraploid zigot oluşur. Bu durum iki basamaklı olarak da meydana gelebilir: İndirgenme geçirmeyen 2X bir gamet normal bir 1X gametle birleşip 3X gamet oluşturabilir, ikinci basamakta da bu bireyin indirgenmemiş 3X gameti normal bir 1X gametle birleşerek tetraploid meydana gelebilir.

Poliploidler genel anlamda ikiye ayrılırlar. Tek bir tür içinde meydana gelmişler ise otopoliploidi, farklı türler arasında meydana gelmişler ise allopoliploidi adını alırlar.

Genetik yapı olarak otopoliploidler homozigot veya heterozigot bir özellik taşıyabilirler. Bir başka bireyden genetik bir materyal alınmaksızın meydana gelirler ise homozigot, döllenme ile meydana gelirlerse heterozigot olurlar. İkinci durum tabiatta daha yaygındır.

Ototetraploidlerdeki her bir kromozom takımına ait kromozomlar yapısal olarak birbirlerine benzeyebilirler ancak, bunların genleri farklılık göstermiş olabilirler. Bu durumda beş farklı genotipik sınıf ihtimali doğar: AAAA (quadriplex), AAAa (triplex), AAaa (Dublex), Aaaa (simplex) ve aaaa (nulliplex). Allopoliploidlerde ise durum böyle değildir. Bunlar farklı türlerin hibridleri olduklarından dizomik kalıtım gösterirler. Genotipik kalıtları ise, AABB dir. Mayoz bölünme sırasında ototetraploidler tetravalanlar oluştururken, allotetraploidler bivalan oluştururlar (homolog eşleşme). Bivalan oluşturan allopoliploidler genomik allopoliploidlerdir ve bu halleriyle diploid gibi davranırlar. Bir de segmental allopoliploidler vardır ki, mayozda homeolog eşleşme göstererek, quadrivalan oluştururlar ve ototetraploid gibi davranabilirler. Böyle allopoliploidler de AAA'A' genomik yapısındadırlar.

Poliploidi olayının heksaploid, oktoploid veya daha yüksek durumlarında otoalloploidi durumu ortaya çıkabilir. Böyle bireylerin genomik yapısı ya AAAABB, ya da AABB'BB' dir. Örneğin heksaploid *Scilla autumnalis* de bu olay rapor edilmiştir (Ainsworth et al, 1983). Otoalloploidi kompleks olaylar sonucu meydana gelmektedir ve iki tane

genomik olarak uzak ebeveynin olaya katılımı söz konusudur. Bunların biri ya da ikisi birden otopoliploid orijinli olabilmektedirler.

Ototetraploidi geçiren bir bitki mayoz bölünmenin metafaz safhasında tamamen benzer dört homolog kromozoma sahip olacağından, quadrivalanlar oluşturacaktır. Bunun sonucu olarak, anafazda kromozomlar düzenli olarak kutuplara ayrılamayacak ve gametler steril olacaktır. Bu durumda bireyin dört homolog kromozomunun birbirinden yapısal ya da gensel olarak farklılaşması dölünü devam ettirebilmesi açısından zorunlu olacaktır. İşte, poliploidlerin evrimindeki diploidizasyon olayı burada olmaktadır. Bu ekstra lokuslar ya mutasyonla değişime uğramakta, ya da "gen sessizleşmesi" olayı ile inaktif hale geçmektedirler. Böylece ebeveyn genomundan farklı bir genomun oluşması sağlanmakta ve quadrivalan frekansı düşürülmektedir. Moleküler biyoloji çalışmaları tetraploidiyi takiben dublike olduğu tahmin edilen genlerin yaklaşık %50'sinin artık inaktif hale geçtiklerini göstermiştir (Ingle et al 1975; Ferris and Whitt, 1977a; 1977b; Allendorf, 1978).

Otopoliploidlerin allopoliploidlerden ayırt edilebilmesi oldukça zordur (Grant, 1971). Eskiden beri kullanılan yöntemler arasında; mayotik analizler, döl verimliliğinin kontrolü ve bireylerin morfolojik yapılarını karşılaştırmak verilebilir. Son yıllarda ise, daha güvenilir ve kesin sonuçlar verebilecek moleküler biyoloji ve elektron mikroskop teknikleri kullanılmaya başlanmıştır.

Otopoliploidleri allopoliploidlerden ayırt edebilmek için başvurulan tekniklerden sitolojik incelemeler kromozom davranışlarının yorumunu kapsamakta ve incelemelerin hem mitoz, hem de mayozda yapılması gerekmektedir. Mayozun metafaz evresinde multivalanların gözlenmesi otopoliploidinin varlığı için bir delil teşkil etmektedir. Multivalanların bu evredeki yokluğu ise allopoliploidi varlığı için bir delildir. Ancak eski bir otopoliploid evrimleşme sırasında çeşitli mutasyonlara maruz kalmış olabileceğinden homolog kromozomlar farklılaşmış olabilecektir ve bir otopoliploidden beklenen multivalan frekansı daha düşük bir değer gösterebilecektir. Aynı şekilde segmental allopoliploidler de mayoz evresindeki çeşitli frekanslarda multivalan varlığı ile karakterize olduklarından, çoğunlukla gerçek allopoliploidlerden ziyade otopoliploidlere benzer bir davranış göstereceklerdir. Buradan da anlaşılacağı üzere mayozun incelenmesi otopoliploidi için tek başına bir delil teşkil edememektedir. Mitozun aynı amaçla incelenmesi de homolog kromozomların sayısının belirlenmesi ile olmaktadır. otopoliploidler mitoz evresinde dört tane homolog kromozom bulundururken, allopoliploidlerde iki çift homolog kromozom grubu vardır ve bu çiftler birbirlerine göre homeologdurlar. Segmental allopoliploidlerde ise segmental bir homologluk ve homeologluk söz konusudur. Zamanla meydana gelebilecek bir takım mutasyonlar ve dolayısıyla kromozom varyasyonlarının varlığı ihtimalinin göz önünde bulundurulması da mitoz çalışmalarının tek başına otopoliploidi varlığı için sağlıklı bir delil olamayacağını göstermektedir.

Döl verimliliğinin karşılaştırılmasında otopoliploidlerden teorik olarak beklenen mayozun metafazındaki multivalanların varlığı sebebiyle homolog kromozomların anafazda kutuplara eşit olarak dağılamaması ve dolayısıyla gametik kısırılığın gözlenmesi olacaktır. Allopoliploidlerde ise mayozun metafazında bivalanların oluşması beklendiğinden, anafaz evresinde kromozomların kutuplara eşit olarak dağılması söz konusu olacak ve verimli döller elde edilecektir. Ancak bazı istisnai durumlarda segmental allopoliploidler multivalan oluştururlarken, otopoliploidlerde bivalan oluşturabileceğinden döl verimliliği açısından beklenen değerlerle gözlenen değerler farklılık gösterebileceklerdir.

Teorik olarak otopoliploidlerden beklenen, morfolojik yapı olarak ebeveyn diploidlere benzemeleridir. Allopoliploidler genetik olarak hibrid olduklarından, hibrid bir morfoloji göstermeleri teorik olarak beklenebilir. Ancak gözlenen her zaman böyle olmamaktadır. Segmental allopoliploid bireylerde de genlerin bir kısmı ebeveyn diploide benzerlik göstereceğinden yanılgılara yol açabilecektir. Ototetraploidler zamanla belirli bir genom değişikliği geçireceğinden, morfolojik olarak diploidlerden farklı olabileceklerdir. O halde, tek başına morfolojik benzerliklerin karşılaştırılması da güvenli bir kriter olamamaktadır.

Bugüne kadar bilim adamları için sadece otopoliploidinin teşhisi ve varlığının ispatı bir problem olmamıştır. Otopoliploidlerin populasyon seviyesindeki davranışları da açıklanmaya çalışılmış, ancak bugüne kadar bu açıklamalar yeterli seviyeye ulaşmamıştır. 1940'lı yıllarda

otopoliploidler için ortaya atılan bir çok soru hala cevapsız kalmıştır. Son 20 yıldır moleküler biyolojinin gösterdiği atak ve genetiğin diğer dallarının buna paralel olarak ilerlemesiyle birçok soruya ışık tutacak şekilde bazı hipotezler ve teoriler ortaya atılmıştır ve bunlar hâlâ destek beklemektedir. Bu sorulardan en önemlisi, otopoliploidlerin nasıl olup da diploid ebeveynlerine nazaran dezavantajlı olmalarına rağmen yerleşebildiği ve hatta bazı durumlarda onların yerini aldığıdır.

Otopoliploidlerin başarısı üzerine farklı görüşler ortaya atılmıştır. Stebbins (1971), "kromozomların iki katına çıkması yüksek bitkilerin başarısına yardım etmemekte, tam tersine bu başarıya bir engel teşkil etmektedir" demiş, bu görüşe katılmayan Levin (1983) ise, otopoliploid bireyin kendi sitolojik, kimyasal, genetik ve gelişimsel özelliklerini büyük ölçüde değiştirebilme potansiyeline sahip olabileceğini ve diploid atalarının tolerans sınırlarını aşabileceği fikrini savunmuştur.

Otopoliploidlerin populasyon seviyesindeki başarısının tetrazomik kalıtım avantajına sahip olmalarından kaynaklandığı görüşü yaygınlık kazanmaktadır (Muller, 1914; Haldane, 1930; Stebbins, 1947, 1980; Barber, 1970; Roose and Gotlieb, 1976; Lewis, 1980b; Soltis and Soltis, 1989a; 1989b). Tetrasomik kalıtım ototetraploid bir bireye, diploid ebeveyne nazaran daha fazla heterozigot olabilme esnekliğini kazandırır. Diğer bir deyimle diploid bir bireyin ortama uyum sağlamasını kolaylaştıracak böyle bir değişikliğin genlerinde meydana gelmesi şansı

için bir lokusta ancak iki alele sahip olmasına rağmen, bu ihtimal bir lokusta dört alele sahip olduğundan ototetraploid bir bireyde daha yüksektir. Soltis and Soltis, (1989a) tarafından yapılan bir çalışmada, autotetraploid *Tolmiea menziesii* 'nin bir lokusta 3 ila 4 arasında farklı alel tesbit edilmiş ve diploidlere nazaran ototetraploid bireylerde daha fazla heterozigotluk olduğu rapor edilmiştir. Bu heterozigotluk, bireyin genleri üzerinde bir dengeleme ve tamponluk potansiyeli doğurabilmektedir. Böylece birey genetik ve kimyasal açıdan esnek olabilmektedir veya en azından bu potansiyeli elinde bulundurabilmektedir. Mesela, çoğulcul enzim formları böyledir.

Tetrasomik kalıtım sayesinde, ortam değişikliklerine uyum kolaylaşabilmekte; tuzluluk, kireçlilik, radyasyon, mutajen ve zehirli maddelere karşı daha dayanıklı olunabilmektedir. Ayrıca bu sayede buzul bölgeler, çorak alanlar ve kumlu topraklarda da hayatta kalabilme şansı artabilmektedir.

Allopoliploidlerin gen lokuslarında ise, hibrid olmalarından kaynaklanan dizomik bir kalıtım söz konusudur. *Compositae* familyasından ve allopoliploid olan *Trapagon mirus* ve *Trapagon miscellus* da dizomik kalıtım gözlenmiştir (Roose and Gottlieb, 1976).

Tetrazomik kalıtım ototetraploidlerde yaygın değildir (Grant, 1971). Bazı eski ototetraploid formlarda homolog alellerin bir kısmı farklılaşmış

dublike formlara dönüştüklerinden, tetrazomik kalıtım görülmeyebilir. Aynı şekilde, tetrazomik kalıtım allotetraploidlerde tam olarak yok denilemez çünkü, segmental allotetraploidler bazı gen lokuslarında bu özelliği taşıyabilirler.

Otopoliploidlerin başarısının sebeplerinin anlaşılması açısından Diploid ebeveynler ile otopoliploid kuşakların karşılaştırmalı araştırmaları da yapılmış ve gelişimsel, kimyasal ve hoşgörülük açısından aralarında bazı farklılıkların olduğu gözlenmiştir. Diploidlerde tohumlar daha küçüktürler ancak, otopoliploidlere nazaran daha hızlı çimlenirler. Embriyo gelişimi otopoliploidlerde daha hızlı olduğu için filizler diploidlere göre daha hızlı büyürler. Bu durum ergin safhada kendini göstermez. Bunun sebebi çekirdek por sayısının bitkilerde ve hayvanlarda ploidi düzeyiyle paralel bir artış göstermeyişinden kaynaklanmaktadır (Maul, 1977). Oysa çekirdek hacmi ve dolayısıyla çekirdek yüzeyi ploidi ile artmaktadır. Bu durumda por sayısı artmadığından çekirdekten hücreye daha az materyal daha uzun bir sürede geçecektir. Çekirdek-hücre geometrik ilişkisine böyle bir müdahale sonucu metabolizma yavaşlayacaktır (Cavalier-Smith, 1983; 1985). Bir başka sebep de poliploidlerde terleme (Chen and Tang, 1945; Tal and Imber, 1971; Tal et al, 1979; Tal, 1980) ve hormon salınımının (Tal ve Imber, 1971; Tal et al, 1979; Tal, 1980) düşük olmasıdır. Terlemenin düşük olmasının sebebi, yapraklardaki her bir stoma çapının diploidlere kıyasla otopoliploidlerde daha geniş olmasına rağmen; sayısının otopoliploidlerde yaprak çapına kıyasla daha düşük olmasına bağlanmıştır (Tal and Imber, 1971; Tal et al, 1979; Tal, 1980).

Otopoliploidlerin yavaş büyümesi, çiçeklenme zamanının da diploidlere nazaran geri kalmasına sebep olmaktadır (Bennet, 1972).

Otopoliploid ve diploid bitkiler içerdikleri rRNA miktarı açısından da karşılaştırılmışlardır. Örneğin ototetraploid domatesin rRNA miktarının diploid domatestekinin %85'i olduğu açıklanmıştır (Tal, 1977; Albuzio et al, 1978). Aynı şekilde Ingle and Sinclair, (1972) ve Ingle et.al (1975)' in yaptığı araştırmaların sonucunda *Hyacinthus orientalis'* in 2n, 3n ve 4n varyetelerinde RNA miktarının aynı olduğu rapor edilmiştir. Bu araştırmalardan da anlaşılmaktadır ki, RNA miktarının artışı gen miktarının artışından bağımsızdır.

Diploidlerle otopoliploidler içerdikleri su miktarı açısından da karşılaştırılmışlardır. Otopoliploidlerin daha fazla su içerdiği ve dolayısıyla daha fazla ozmotik basınca sahip oldukları rapor edilmiştir (Tal and Gardi, 1976). Tal and Gardi (1976) bunun sebebini otopoliploidlerdeki düşük terlemeye bağlamışlardır.

Kimyasal yapı açısından karşılaştırma yapıldığında; diploid bitkilerin daha ziyade yapısal bileşiklerce (selüloz, hemiselüloz, lif) zengin oldukları poliploid bitkilerin ise şeker, nişasta, organik asitler ve C vitaminince zengin oldukları gözlenmiştir (Lewis, 1980b).

Strese dayanıklılık açısından diploidlerle poliploidler karşılaştırıldığında, poliploid bitkiler tuzluluk (Tal and Gardi, 1976), mutajenler (Sparrow and Miksch, 1961) ve herbisitlere (Tomkins and Grant, 1978) daha dayanıklıdırlar. Hatta, buzul, kumlu, tuzlu ve kurak bölgeleri istila etmiş durumdadırlar (Löve and Löve, 1957; 1967). Güney bölgelerden kuzey bölgelere doğru gidildiğinde poliploidlere daha sık rastlanmaktadır (Löve and Löve, 1975).

Diploid ile ototetraploid sitotiplerin bir popülasyon içindeki birbirlerine karşı davranışları üzerine de teorik bazı çalışmalar yapılması poliploidlerin başarısını araştırma açısından zorunlu olmuştur.

Bir populasyonda yeni bir poliploid birey ortaya çıktığında bu kendi diploid atasıyla populasyonda tutunmak için bir yarışa girer. Poliploid yumurtaların çoğu, diploid bireylerin çoğunlukta olduğu bir ortamda oldukları için, haploid polenlerle döllenecek ve triploidleri oluşturacaklardır. Bu bireyler de kısır olacaklardır. Buna karşılık diploidler normal gametlerle döllenebildiklerinden diploid ve normal bireyler meydana getireceklerdir. O halde, yeni ve azınlıktaki poliploid, diploid popülasyondan elimine edilecektir veya düşük frekansta kalacaktır. Bu teori 1975 de Levin tarafından ortaya atılmış "Azınlık Sitotipin Dışlanması Teorisi" olarak bilinmektedir. Ancak bazı popülasyonlara bakıldığında poliploidlerin diploid sitotiplerle beraber aynı habitatı paylaştıkları görülmektedir. Bu bitkilerden biri de *Plantago media'* dir (Van Dijk and Van Delden, 1990; Van Dijk, 1991). Lewis (1980b) ve Solbrig (1980)

poliploidler ve onların orijinlerini aldığı diploidlerin popülasyon düzeyinde karşılaştırılmalarıyla konuya ışık tutulacağı görüşünü savunmuşlardır. Özellikle simpatrik popülasyonların yani her iki sitotipin birlikte bulunduğu bölgelerin (mozaik bölge) araştırılması önem taşımaktadır.

Otopoliploid *Plantago media* Avrupanın Pireneler bölgesinde simpatrik bir dağılım gösterdiğinden her iki sitotipin genetik özelliklerinin karşılaştırılması bu bölgede önem taşımaktadır.

*P. media* ile ilgili ilk araştırmalar kromozom sayısı, Avrupa üzerindeki sitotiplerin dağılımı ve fenotipik özelliklerinin rapor edilmesi ile sınırlı kalmıştır (Mc Cullagh, 1934; Sugiura, 1939; Rahn, 1954; 1957; Sagar and Harper, 1964; Sopova and Rizova, 1975). *P. media* da ilk poliploidi varlığı Mc Cullagh (1934) tarafından rapor edilmiştir. Bu araştırmacı diploidlerin  $2n=2x=12$ , poliploidlerin de  $2n=4x=24$  kromozom sayısına sahip olduğunu ve poliploidlerin allopoliploid olduklarını rapor etmiştir. Allopoliploidi varlığını mitozda satellite sahip sadece iki kromozom görmesi sebebiyle iddia etmiştir. Daha sonraki çalışmalarda Rahn (1957) durumun böyle olmadığını, satellitli dört kromozomun bulunduğunu ve bir ototetraploidi varlığının söz konusu olduğunu göstermiştir.

*P. media* nın Avrupa üzerindeki coğrafik dağılımı ilk defa Rahn (1954) tarafından bir harita üzerinde gösterilmiştir. Bu haritadan, tetraploidlerin diploidlere nazaran daha geniş bir dağılım gösterdikleri ve

diploidlerin güney bölgeleri işgal etmesine karşılık tetraploidlerin kuzey bölgeleri tercih ettikleri anlaşılmaktadır. Daha sonra Van Dijk and Van Delden (1990) ve Van Dijk (1991) daha detaylı araştırmalar yaparak bu haritayı yeniden çizmişlerdir. Bu iki araştırmacı Pirene' ler başta olmak üzere Avrupanın çeşitli bölgelerinden toplanan *P. media* örnekleri üzerinde otopoliploidi varlığını da ispat etmeye çalışmışlardır.

Bu çalışmada kullanılan bitkiler Pireneler ve Avrupanın çeşitli bölgelerinden getirilmiştir (bkz: Materyal ve Metod Bölümü). Pirenelerde yapılan araştırmada Rio Gallego vadisindeki *P. media* dağılımı detaylıca rapor edilmiştir (Van Dijk and Van Delden 1990; Van Dijk, 1991). Vadinin kuzeyi diploidlerle kaplı iken, Formigal bölgesine yaklaştıkça tetraploidler görülmeye başlanmaktadır. Güney kısımlar ise tamamen tetraploidlerden oluşmaktadır. Formigal' de yaklaşık 5 kilometrelik diploid ve tetraploid *P. media* bireylerinin her ikisini birden içeren mozaik bir bölgenin varlığından söz edilmiştir (Van Dijk, 1991). Bu araştırmada kullanılmış olan materyalin büyük bir kısmı bu mozaik bölgeden toplanmıştır.

Van Dijk (1991)'e göre, Formigal bölgesinde "Azınlık Sitotipin Dışlanması Teorisi" güçlü bir biçimde kendini göstermektedir. Çünkü civarda bulunan hibrid triploidlerin fertil olmadıkları gözlenmiştir. Bu bölgede bir sitotipin varlığı diğerinin varlığı ile kısıtlanmıştır. Hemen hemen bütün döllenmeler mozaik bölgedeki saf sitotipler arasında olmaktadır. Buna bir sebep de iki sitotip arasındaki çiçeklenme zamanının

farklı olması ve dipliodlerin iki hafta önce çiçek açmasıdır (Van Dijk, 1991).

Bu araştırmada *Plantago media* poliploid kompleksindeki iki sitotip DNA miktarları açısından karşılaştırılmıştır. *Plantaginaceae*'nin türleri arasında morfolojik olarak çok fazla bir fark gözlenemediğinden, türlerin taksonomik yerinin belirlenmesi açısından genetik araştırmalar önem taşımaktadır.

Bugüne kadar genus *Plantago* da ekirdek DNAsı miktarı ölümü yapılmamıştır. Bu açıdan, bu tez hem genus *Plantago*, hem de *P.media* da ilk DNA miktarı raporunu teşkil ettiğ-i için önem taşımaktadır. Araştırmada kullanılmış olan Feulgen Mikrospektrofotometri Tekniğ-i (Leuchtenberger, 1958) ekirdek içindeki DNA miktarlarının karşılaştırılması konusunda yaygın olarak kullanılmıştır.

DNA, kromozom materyali olduğundan ve canluların kalıtımında önem taşıdığından, genetikçiler için araştırma materyali olarak büyük ölçüde ilgi görmektedir. Çekirdek DNA' sı miktarı, bir genus içindeki evrimsel sapmalara da bir delil teşkil edeceğinden, DNA miktarı ve diğ-er genetik gözlemlere dayalı bir sistematik sınıflandırma amacıyla da bu araştırma sonuçları kullanılabilir.

Ökaryotik organizmalarda haploid DNA kütlesine C değeri (=genom ölçüsü) adı verilmektedir. Çekirdek DNAsının miktarı türler arasında, tür içindeki bireyler arasında ve hatta bir bireyin hücreleri arasında bile değişkenlik gösterebilmektedir. Diğer bir deyimle, bazı canlı guruplarında, DNA miktarı varyasyonu kromozom sayısından bağımsızdır. Bu durum, genetik ve evrimsel olayların bir akibeti olarak ortaya çıkabilir. Rees et al. (1966) ve Rees and Jones, (1972) diploid kromozom sayısı  $2n=2x=14$  olan farklı *Lathyrus* türlerinde DNA miktarı farklılığının üç katına kadar çıkabildiğini gözlemişlerdir. *Vicia sativa* ve *Vicia faba* arasındaki DNA miktarının yaklaşık olarak yedi kat fazla (Rees et al., 1966; Chooi, 1971) olduğunun bulunması da, farklı türler arasında ki DNA miktarı farkına bir örnek teşkil etmektedir. *Lolium*'da (Rees et al., 1966), *Allium*'da (Jones and Rees, 1968), *Pinus* ve *Picea*' da (Mickshce, 1967), *Secale*'de (Bennet et al, 1977) kromozom sayısından bağımsız olarak ortaya çıkan aynı çekirdek DNAsı farklılığı rapor edilmiştir.

Bazı poliploidlerde teorik olarak beklenen çekirdek DNAsı farkı, genus *Betula* da olduğu gibi, gözlemlenmeyebilir (Grant, 1969). Hatta bazı durumlarda en yüksek DNA miktarının tür içinde ara kromozom sayısına sahip bitkilerde gözlemlendiği de rapor edilmiştir (Southern, 1967; Beçak et al, 1967; Christensen, 1966).

Diploidler bireylerle poliploid bireyler arasında yapılan çekirdek DNA sı karşılaştırma çalışmaları oldukça az bir sayıda olduğu için bu araştırmaların çoğaltılması konuya açıklık getirilmesi açısından önemlidir.



## 2. MATERYAL VE METOD

### 2.1. Materyal

Araştırma materyali Hollanda, Groningen Üniversitesi, Genetik Bölümü Öğretim Elemanı Dr. Peter Van Dijk tarafından sağlanmıştır. Analizler için 21 farklı birey kullanılmış olup, bunlardan 7 tanesi ototetraploid ( $2n=4x=24$ ) ve 7 tanesi diploiddir ( $2n=2x=12$ ). Kolşisinle indüklenmiş 7 birey de kontrol grubu olarak kullanılmıştır.

Diploid bireylerden iki tanesi Rusya kökenlidir ve Ural bölgesinden getirilmiştir. Geri kalan diploidler İspanya kökenli olup, Formigal bölgesindedir. ototetraploidlerden bir birey Saraybosna dan getirilmiş olup, diğerleri Formigal bölgesindedir. Kolşisinle indüklenmiş bireyler Formigal bölgesinden toplanan diploidlerden orijin almışlardır (Tablo 2.1.)

#### 2.1.1. Materyal bitkinin genel özellikleri

*Plantago media*'nin coğrafik dağılımı ilk defa Pilger (1937) tarafından rapor edilmiştir. Coğrafik dağılım oldukça geniş olup, Avrupa'nın hemen

Tablo 2.1.:Çalışmada kullanılan diploid, ototetraploid ve yapay tetraploid bitkilerin kod numaraları, kromozom sayıları ve köken aldıkları bölgeler.

Kod Numarası	Kromozom No.	Köken Aldığı Bölge
2C70-5	$2n=2x=12$	Formigal (İspanya)
1178-B	$2n=2x=12$	Formigal
H8	$2n=2x=12$	Formigal
2C58-3	$2n=2x=12$	Formigal
A18-C	$2n=2x=12$	Ural (Rusya)
LA7D	$2n=2x=12$	Formigal
Ural-2	$2n=2x=12$	Ural
Hg	$2n=4x=24$	Formigal
FO4X-1	$2n=4x=24$	Formigal
FO4X-2	$2n=4x=24$	Formigal
A14	$2n=4x=24$	Formigal
A18-12-A	$2n=4x=24$	Formigal
H-16	$2n=4x=24$	Saraybosna
LA7-11-A	$2n=4x=24$	Formigal
C70-3	$2n=4x=24$	Formigal
C70-2	$2n=4x=24$	Formigal
C40	$2n=4x=24$	Formigal
C58-3	$2n=4x=24$	Formigal
C58-5	$2n=4x=24$	Formigal
C58-2	$2n=4x=24$	Formigal
C-65	$2n=4x=24$	Formigal

hemen her bölgesinde , Rusya'nın orta bölgelerinde, Kuzey Amerika, Yeni Zellanda, Çin ve Japonya'da da örneklere rastlanmıştır.

Avrupa'da diploid sitotipin coğrafik dağılımı tetraploid sitotipden daha geniş bir dağılım arz etmektedir (Rahn, 1957). Tetraploidler daha ziyade kuzey, batı, ve orta Avrupa'da yerleşmiş durumda iken, diploidler Avrupa'nın güney ve doğu bölgelerinde görülmektedir. Ancak bazı istisnalar vardır. Mesela Yugoslavya'da ve Kafkasya'da tetraploid sitotipe rastlanmış olup, İspanya ve Rusya'da diploidlerle beraber tetraploidlere de rastlandığı gözlenmiştir (Rahn,1954; Sopova and Rizova, 1975).

*P. media*'nın yaprakları tüylü ve elips şeklinde olup, yaklaşık olarak (2-) 4-6 (-40) cm uzunluğundadır (Sagar and Harper, 1964). Yaprak, kısa olan yaprak sapına doğru bir daralma gösterir. Bitkiler açık alanlarda veya kırılgan yerlerde toprak yüzeyine sıkıca tutunmuş bir görünüm arz ederler. Ancak, kendilerinden daha uzun bitkilerle beraber bir arada bulduklarında yaprak sapları biraz daha uzun ve daha dar bir yapıda olabilmektedir.

Bitkinin kökü oldukça geniştir ve uzundur. Çok sayıda fibröz kökler çapı 1-2 cm olan ana kökten çıkar.

Çiçekler başak yapıda olup, kokuludur ve her bir çiçek yaklaşık olarak 2-4 (-15) cm uzunluğundadır. Çiçek sapı çıplaktır ve genellikle

yaprakların boyunu aşacak bir biçimde uzundur. Taç yaprakların çapı yaklaşık olarak 4 mm olabilmektedir ve beyazımsı-pembe bir renge sahiptir. Sera şartlarında çiçek sayısı 10'a kadar varabilir. Her çiçekte 4 tane anter vardır ve stigma uzun olup, tüylüdür. Her anterde yaklaşık olarak 800 polen tanesi bulunur (Basset and Crompton, 1968). Çiçeklenme zamanı Haziranda başlar ve kış başlangıcına kadar sürer.

Tohum oval ve yaklaşık olarak 1.8 mm uzunluğunda ve 1.0 mm genişliğindedir. Tohum rengi kahverengi-siyah olup, dorsal yüzeyinde daha açık bir renk tonundan oluşmuş bir band bulunur. Tohum yüzeyi hafif kırışıktır. Tohumlar Temmuz başı ve kış başına kadar olan zamanda serbest kalabilirler. Tabiat şartlarında tohumların çoğu Ağustos ve Eylül aylarında serbest kalır. Bazı tohumların çimlenmesi zaman alabilir. Çimlenme bahar, yaz yada sonbaharda olabilmektedir. Tohumlar kuru bir ortamda üç yıla kadar çimlenebilme özelliklerini koruyabilirler ve çimlenme için gerekli sıcaklık en az 15 °C dır (Sagar and Harper, 1964).

*P.media* kendi kendine döllenemeyen (allogam) bir bitkidir. Döllenme rüzgâr ve böcekler (Hymenoptera, Diptera) yardımıyla olmaktadır. Çiçeklerin kokulu ve renkli olması böcekle döllenmenin varlığının bir işaretidir. Üreme hem vegetatif hem de tohumla olabilmektedir. Vegetatif üreme ile bitkinin yanlarından 12 ye kadar bitkicik çıkabilmektedir. Tohumdan üreyen bitkiler ilk sene çiçek vermezler, yaşlı olanlar ise her sene çiçek verirler.

*P. media* çok yıllık bir bitkidir. Genellikle bazik, kalsiyum oranı yüksek topraklarda ve insan tarafından kullanılmayan ya da az kullanılan alanlarda yaygın olarak bulunur. Soğuğa ve kuraklığa oldukça dayanıklıdır. Kuraklığa dayanıklılık açısından ele alındığında tipik bir kireçli toprak bitkisi olduğu söylenebilir. **Çok eski çağlarda bu bitkinin kuduz hastalığını iyi etmekte kullanıldığı ve ezilmiş yapraklarının köpek ısırıklarına sarıldığı bilinmektedir.**

Diploid ve ototeraploidler morfolojik olarak karşılaştırıldığında oldukça benzerdirler ve arazide ayırd edilebilmeleri oldukça güçtür. Çiçek sapı uzunluğu ototetraploidlerde daha uzun olup, aradaki fark yaklaşık olarak  $12.46 \pm 1,10$  cm dir. Yaprak uzunluğu farkı ise, ototeraploidlerde daha uzun olmak üzere,  $6.22 \pm 0.58$  cm dir. İki sitotip arasındaki çiçek uzunlukları farkı ototetraploidler daha uzun olmak üzere,  $0.96 \pm 0.42$  cm dir. Rahn (1954), diploidlerin çiçeklenme zamanının ototetraploidlerden bir hafta önce olduğunu ve her bir kapsüldeki tohum sayısının diploidlerde iki, ototetraploidlerde ise iki den fazla olduğunu rapor etmiştir.

Rahn (1957) *P. media*' yı *P. lanceolata* ve *P. major* ile melezlemeyi denemiş ise de başaramamıştır. Bu da *P. media*'da hibridlenmeye karşı güçlü bir engelin varlığını göstermektedir.

## 2.2. Metod

DNA miktarı ölçümleri Nikon-fotometre aygıtı kullanılarak Feulgen Mikrospektrofotometri tekniğiyle (Leuchtenberger, 1958) yapılmıştır. Araştırma Londra Üniversitesi laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

### 2.2.1. Metodun teorisi

Mikrospektrofotometri tekniği, mikroskop altındaki hücre çekirdeklerinin ışığı absorbe etme miktarlarının ölçümüne dayanmaktadır. Bu teknikte ilk basamak DNA'nın Feulgen boyası (Schiff ajanı) ile boyanmasıdır. İkinci basamakta ise boyanmış hücre çekirdeği tarafından absorbe edilen ışığın miktarı tesbit edilerek DNA miktarı hesaplanır. Birinci basamak DNA'nın boyama ile görülür hale gelmesi işlemini içerdiğinden kalitatif, ikinci basamak ise DNA miktarının hesaplanması olduğundan kantitatif özelliindedir.

DNA'nın kalitatif olarak tesbiti Feulgen and Rosenberg (1924)'e göre şöyle olmaktadır. Boyama işleminden önce yapılan zayıf asit muamelesi (1N HCl, 60 °C, 0-24 dakika) DNA molekülündeki baz-şeker glikozid bağını kırmakta ve aldehid gruplarını ortaya çıkarmaktadır. Bu aldehidler Feulgen boyaması esnasında fuksin-sülfür asidiyle reaksiyona girmekte

ve koyu kırmızı renkte çözünmeyen bir bileşik meydana gelmektedir. Bu renk Feulgenin, DNA molekülündeki hafif asit hidroliziyle açığa çıkarılan, aldehid gruplarıyla birleştiğinin bir indikatörüdür.

DNA'nın kantitatif olarak Feulgen reaksiyonuyla tespit edilmesi ise; mikrospektrofotometre cihazından hücre üzerine verilen monokromatik ışığın (dalga boyu 260 nm), Feulgen-DNA kompleksi tarafından absorbe edilme miktarının ölçülmesi esasına dayandığı için fotometrik-kimyasal bir metod olarak kabul edilmektedir. Ölçüm işlemi, monokromatik ışığın, renkli karışımdan geçen şiddeti (I) ile aynı şartlar altında fakat renksiz bir ortamdan geçirilmesinden sonraki şiddetinin (I°) karşılaştırılmasıyla gerçekleştirilir.

### 2.2.2 Materyalin ve preparatların hazırlanması

Bu çalışmada, mikrospektrofotometri tekniği *P. media* için özel olarak geliştirildi ve başarılı sonuç verdi. Hücre materyali olarak kök uçları kullanıldı ve DNA miktarı önceden bilinen ve kontrol materyali olarak kullanılan *Crepis capillaris* bitkisi kök uçları da araştırmanın sağlığı açısından *Plantago media* kök uçları ile aynı tüp içinde ve aynı şartlarda aynı işlemlere tabi tutuldu. *C. capillaris* kök uçları *P. media* kök uçlarına nazaran dikkati çekecek bir biçimde daha ince olduklarından köklerin karışması problemi ortaya çıkmadı. İşlem sırasında kullanılan

kimyasalların her defasında saf olmasına ve aynı ticari markadan olmasına, Feulgenin gerek kalitatif, gerekse kantitatif olarak her defasında benzer reaksiyonu vermesi gerekliliği açısından, özellikle önem verildi.

Yaklaşık 1-2 cm uzunluğundaki 3-4 adet *C. capillaris* ve *P. media* kök uçları aynı tüpte  $\alpha$ -monobromonaftalen (2-monobromonaftalen) 'nin çifte damıtılmış sudaki doymuş çözeltisinde,  $\sim 4$  °C' da, bir gece, ön tesbit işlemi için bekletildi. Ertesi gün bu çözeltiden çıkarılan kök uçları tesbit işlemi için mutlak etil alkol : glasiyal asetik asit (3:1, v/v) solüsyonu içinde  $-10$  °C' da, 24 saat bekletildi. Daha sonra kök uçları bu çözeltiden çıkarıldı ve her seferinde 2'şer dakika olmak üzere üç defa çifte damıtılmış su ile yıkandı.

Kök uçları hidroliz tüplerine alınmadan önce, 1N HCl ihtiva eden hidroliz tüpleri  $60$  °C da ön ısıtmaya tabi tutuldu ve damıtık sudan çıkmış olan kök uçları doğrudan bu çözeltinin içine alındı. Hidroliz işlemi  $60$  °C' da, 8 dakika olarak belirlendi.

Hidrolizden çıkan kök uçları çifte damıtılmış suda 5 dakika dikkatlice yıkandı. Kök uçlarının fazla suları kurutma kağıdında emdirilip, içinde Feulgen boyası bulunan tüplere kondu. Boyama süresi oda sıcaklığında ve karanlıkta 45 dakika olarak tesbit edildi.

Boyama ve hidroliz sürelerinin farklı bireylerden alınan bütün kök uçları için aynı olmasına dikkat edildi.

Koyu boyanmış olan kök uçları seçilip, her bir birey için 2-3 preparat hazırlamak üzere lam üzerine alındı, ve. bir damla %45' lik asetik asit içinde pirinçten yapılmış özel bir çubuğun ucu ile lam üzerinde hızlı fakat yumuşak darbelerle ezildi. Üzerlerine lamelleri kapatılan ve düz bir masa üzerinde iki kurutma kağıdı arasına alınan preparata bir elin baş parmağıyla kuvvetlice bastırıldı. Böylece hücrelerin bir düzlem üzerine gelmeleri sağlandı.

Lamellerin etrafı asetik asitin uçup, preparatın kurummasına ve dolayısıyla sonucu olumsuz yönde etkilemesine imkan vermemek için kauçuk solusyonuyla geçici olarak mühürlendi. Aynı tüpte bulunan *C. capillaris* ve *P. media* kök uçları farklı lamlar üzerinde farklı preparatlar olarak hazırlandılar. Aynı tüpten hazırlanan preparatlara aynı numaralar verilip, ait oldukları türün isimleri belirtildi.

### **2.2.3 Mikrospektrofotometrik ölçüm işleminin uygulanması**

Mikrospektrofotometrik ölçümler, erken profaz evresindeki, her bir birey için 25 tane rastgele seçilmiş çekirdekler üzerinde X40 immersiyon objektifi ile Nikon fotometre cihazında gerçekleştirildi. Her bir çekirdek için

ise 10 tane ölçümün ortalaması alındı. Böylece birey başına 250 ölçüm yapılmış oldu. Daha sonra bunların da ortalaması alınarak her bir bireyin ortalama DNA miktarı pikogram (pg) olarak hesaplandı ( $1 \text{ pg} = 10^{-12} \text{ gram}$ ). Her ploidi düzeyi için ayrı bir tablo hazırlandı ve DNA miktarı değerleri her birey için en küçük değerden, en büyük değere doğru tablolar üzerinde sıralandı (Tablo 3.1, 3.2 ve 3.3).

Mikrodensitometre cihazı ve voltaj düzenleyicisi ölçüm işleminin en az 1 saat öncesinden açılarak ısınma işlemi ve düzenli akımın cihaza gelmesi sağlandı. Galvanometrenin karanlıktaki akımının durağan ve sifıra ayarlanmış olmasına dikkat edildi.

Fotometrik kafadaki teleskoptan bakıldığında çekirdeği tam ortada gözleyebilecek şekilde, preparat alete yerleştirildi. Hemen ardından çekirdek içinden geçen ışığın miktarı galvanometre cihazından okunup değerler kayıt edildi.

Kayıt işlemleri bittikten sonra, preparatın çekirdek veya herhangi bir hücre parçası ihtiva etmeyen boş bir bölgesine objektif kaydırılarak, bu bölgenin galvanometrik ölçümleri kayıt edildi. Boş bölgenin mümkün olduğunca ölçüm yapılan çekirdeğe yakın bir bölge olmasına özellikle dikkat edildi. Son olarak fototüpün kapağı kapatılarak diğer çekirdeklerin de aynı yöntemle ölçüm işlemlerine geçildi.

Çekirdek DNAsı ölçüm işlemleri Feulgen boyasının solmaya başlayıp, hesaplamanın güvenilirliğini olumsuz yönde etkilemesine imkan vermemek için preparasyondan sonra 3-5 saat içinde tamamlandı.

### **2.3. İstatistik Analiz**

Elde edilen rakamların istatistik değerlendirmeleri Düzgüneş (1975)'e göre yapılmıştır.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Diploid Bireylerde DNA Miktarı Ölçümleri

Ölçümler için kullanılan yedi farklı diploid bitkinin toplam ortalama DNA miktarı  $9.05 \pm 0.49$  pg olarak hesaplanmıştır. Yedi bitkinin DNA miktarı  $7.99 \pm 0.87$  pg (Ural-2) ile  $9.75 \pm 0.80$  pg (2C70-5) arasında değişmektedir (Tablo 3.1).

En yüksek DNA miktarını temsil eden bitki (2C70-5) ile en düşük DNA miktarını temsil eden bitki (Ural-2) arasında  $1.76$  pg lik bir fark bulunmuştur. Bu fark diploid bitkilerde DNA miktarı varyasyonunun varlığını göstermektedir ( $t=9.41$ ;  $P < 0.01$ ). 2C70-5 kod numaralı bitkide minimum ve maksimum DNA miktarı değerleri sırasıyla  $8.20$  pg ve  $10.95$  pg olup yedi bitki içerisinde en düşük varyasyona sahip bitkidir.

En fazla DNA miktarı varyasyonu gösteren bitki ise LA7D ve H8 kod numarasına sahip olmaktadır. LA7D ortalama olarak  $8.97 \pm 0.9$  pg DNA miktarına sahip olup; bu değer  $6.41$  pg ile  $9.93$  pg arasında değişim göstermektedir (Tablo 3.1 ve Şekil 3.7.). H8 ise ortalama olarak  $9.20 \pm 0.9$  pg DNA miktarına sahiptir. H8 bitkisinin minimum DNA miktarı  $7.03$  pg iken, maksimum DNA miktarı  $10.67$  pg dir (Tablo 3.1 ve Şekil 3.4 ).

Yedi bitkinin 5 tanesi 9 pg civarında bir DNA miktarına sahiptir. Geri kalan ikisinde yapılan ölçümlerde ise (LA7D ve Ural-2) sırasıyla 8 ve 7 pg civarlarında değerler tesbit edilmiştir. Bu da diploid bitkilerdeki çok yüksek olmayan bir varyasyonun varlığını göstermektedir (Tablo 3.1 ve Şekil 3.1).

Diploid bitkilerin DNA miktarı ölçümleri için toplam  $25 \times 7 = 175$  hücre üzerinde çalışılmış olup, bu hücrelerin %3.42'si 6 pg; %17.14'ü 7 pg; %29.14'ü 8 pg; %33.14'ü 9 pg; %17.14'ü 10 pg civarında değerlere sahiptir.

2C70-5 kod numaralı bitkide ölçümü yapılan hücreler arasında 6 ve 7 pg civarında bir değere rastlanmamıştır (Tablo 3.1 ve Şekil 3.2 ). Bu bitkide % 24 oranında 8 pg civarında; % 40 oranında 9 pg civarında; %36 oranında 10 pg civarında değerler gözlenmiştir. Bu bitki yedi diploid bitki içinde en yüksek oranda 10 pg civarı DNA miktarı ölçümüne rastlanan bitkidir .

1178-B kod numaralı bitkide 6 pg lik bir değere hiç rastlanmamış olup, bu bitkide % 12 oranında 7 pg; % 24 oranında 8 pg; % 44 oranında 9 ve % 20 oranında 10 pg civarında DNA miktarları tesbit edilmiştir (Tablo 3.1 ve Şekil 3.3 ). 1178-B bitkisi % 44' lük oranla 9 pg civarı değerini yedi diploid bitki içinde en yüksek oranda sergileyen bitkidir.

H8 bitkisinde 6 pg lik bir DNA miktarı hiç gözlenmezken, % 12' lik bir 7 pg civarı değeri tesbit edilmiştir. %28' lik bir 8 pg civarı değerini % 36' lik

bir 9 pg ve %24' lük bir 10 pg civarı değeri takip etmektedir (Tablo 3.1 ve Şekil 3.4 ). Bu bitki 2C70-5 bitkisi ile aynı oranda 9 pg civarı değeri sergilemektedirler.

2C58-3 bitkisinde 6 pg' lik bir değer DNA miktarı değeri gözlenmemiş olup, bu bitki % 12 oranında 7 pg; % 28 oranında 8 pg; %40 oranında 9 pg ve % 20 oranında 10 pg DNA miktarı değerlerini sergilemiştir. Bu bitki 1178-B ve H8 bitkileriyle aynı oranda 7 pg civarı değerini ve H8 bitkisiyle de 8 pg civarı değerini aynı oranda göstermektedir (Tablo 3.1 ve Şekil 3.5).

A18-C bitkisi 6 pg civarında bir DNA miktarı sergilemezken, %16 oranında 7 pg civarında; %32 oranında 8 pg; % 32 oranında 9 pg ve % 20 oranında da 10 pg civarında değerlere sahip olduğu tesbit edilmiştir. Bu bitki 1178-B ve 2C58-3 bitkileriyle aynı oranda 10 pg civarı değere sahiptir (Tablo 3.1 ve Şekil 3.6 ).

LA7D kod numaralı bitkide % 4 gibi düşük bir oranda 6 pg civarı DNA miktarı hesaplanmıştır. Aynı bitki de 7 pg civarı değeri % 20 oranında görülürken, 8 pg civarındaki değerlere % 40 oranında rastlanmıştır (Tablo 3.1 ve Şekil 3.7 ). Bu bitki A18-C bitkisi ile aynı oranda 7 pg civarı değerine sahiptir. %40' lık 8 pg civarı oranı yedi diploid bitki içinde hesaplanmış en yüksek 8 pg civarı oranıdır. 2C58-3 bitkisi ile aynı oranda olacak şekilde % 36' lik bir 9 pg civarı değeri sergileyen LA7D bitkisi, 10 pg civarında bir DNA miktarı değeri sergilememiştir.

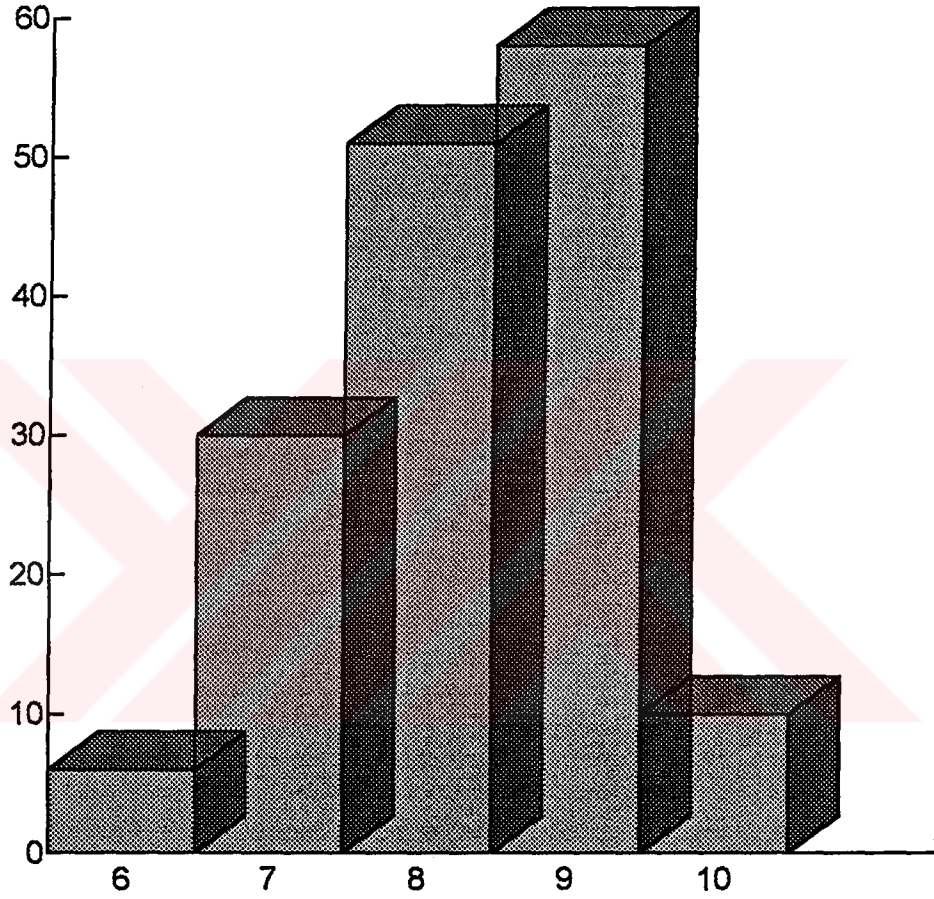
Ural-2 kod numaralı bitki diğer bitkilere kıyasla en yüksek oranda 6 pg civarı DNA miktarı sergileyen bitkidir (%20) (Tablo 3.1 ve Şekil 3.8 ). Bu bitkide 7 pg civarı % 48' lik bir orana sahip bulunmuştur. Ölçümü yapılan diğer diploid bitkilere kıyasla en yüksek 7 pg değeri oranı bu bitkide tesbit edilmiştir. Ural-2 bitkisinde hiç 10 pg civarında bir değere rastlanmazken, % 28 oranında 8 pg ve % 4 gibi düşük bir oranda da 9 pg civarında değerlere rastlanmıştır.



Tablo 3.1.: *P. media* 'nın yedi diploid bitkisinde pg olarak ortalama (2C) DNA miktarları.

Hücre no.	2C70-5	1178-B	H8	2C58-3	A18C	LA7D	Ural-2
1	8.20	7.21	7.03	7.44	7.38	6.41	6.60
2	8.31	7.51	7.48	7.76	7.67	7.60	6.60
3	8.91	7.84	7.57	7.90	7.70	7.77	6.72
4	8.91	8.75	8.11	8.05	7.93	7.80	6.92
5	8.91	8.88	8.48	8.29	8.07	7.88	6.98
6	8.92	8.92	8.66	8.46	8.37	7.90	7.03
7	9.43	8.93	8.67	8.64	8.59	8.33	7.10
8	9.67	8.93	8.85	8.68	8.60	8.33	7.41
9	9.70	8.97	8.85	8.88	8.68	8.34	7.41
10	9.74	9.01	8.85	8.93	8.87	8.64	7.54
11	9.80	9.09	9.03	9.00	8.90	8.64	7.65
12	9.88	9.11	9.39	9.03	8.97	8.79	7.72
13	9.92	9.20	9.48	9.05	9.00	8.88	7.74
14	9.93	9.24	9.48	9.20	9.19	8.88	7.87
15	9.96	9.30	9.65	9.46	9.28	8.94	7.92
16	9.98	9.38	9.78	9.46	9.38	8.97	7.96
17	10.02	9.46	9.80	9.46	9.49	9.07	7.98
18	10.08	9.72	9.84	9.47	9.64	9.09	8.27
19	10.22	9.98	9.93	9.88	9.74	9.13	8.36
20	10.23	9.99	10.00	9.93	9.92	9.24	8.69
21	10.30	10.11	10.02	10.02	10.10	9.24	8.69
22	10.46	10.36	10.02	10.05	10.19	9.67	8.85
23	10.52	10.39	10.21	10.20	10.46	9.84	8.85
24	10.95	10.68	10.38	10.78	10.65	9.90	8.92
25	10.95	10.82	10.67	10.93	10.82	9.93	9.36
Ortalama X=	9.75	9.27	9.20	9.15	9.02	8.97	7.99

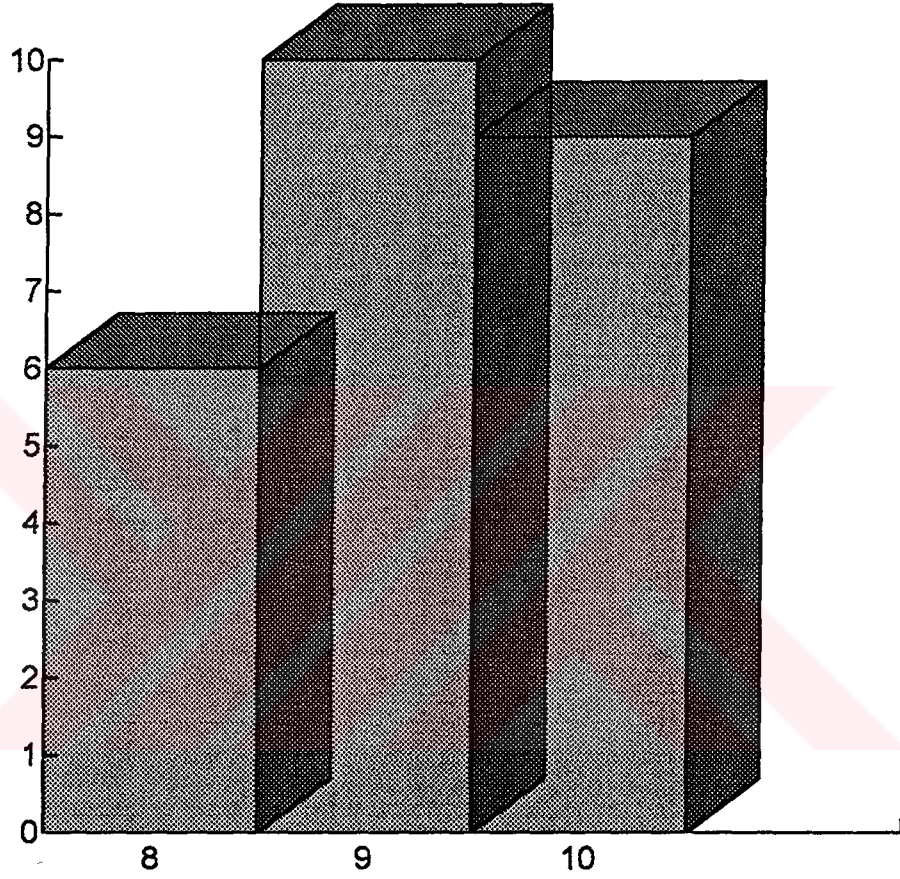
Hücre sayısı



DNA miktarı  
(pg)

Şekil 3.1.:Yedi *P. media* diploid bitkisinde (2C) DNA miktarlarının yığılımını gösteren histogram.

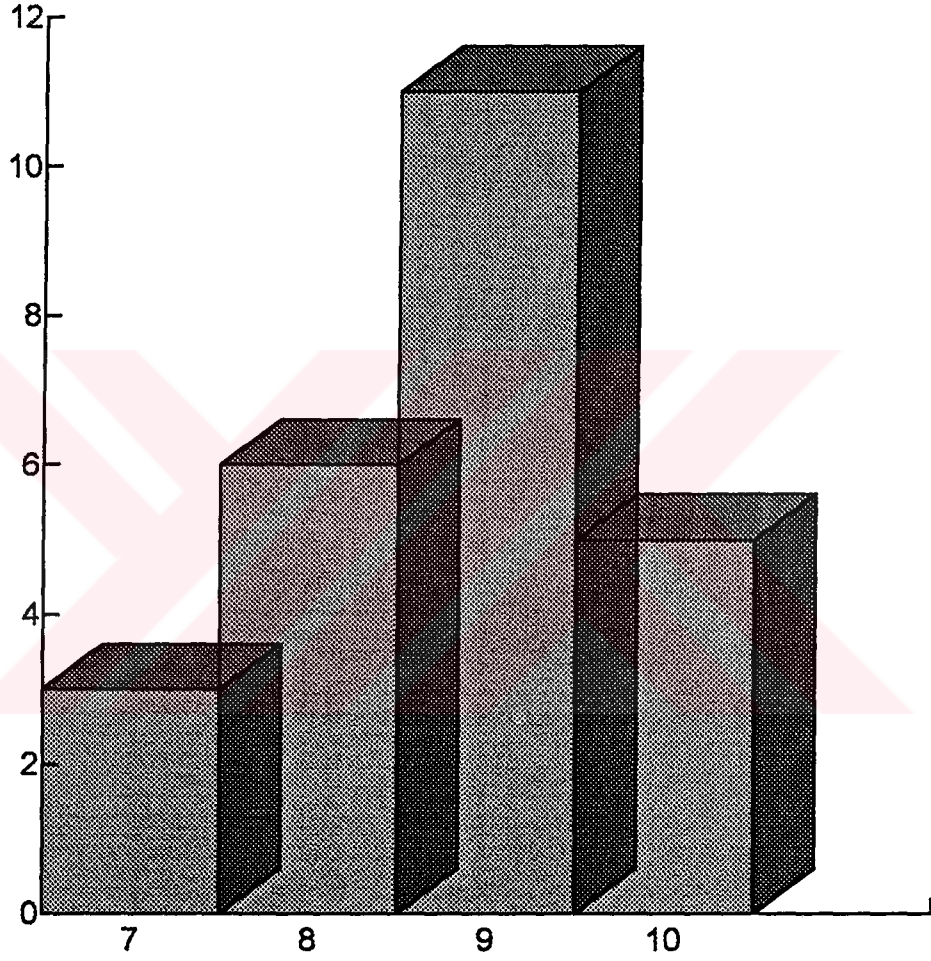
Hücre sayısı



DNA miktarı  
(pg)

Şekil 3.2.: 2C70-2 kod numaralı diploid bitkide (2C) DNA miktarını gösteren histogram.

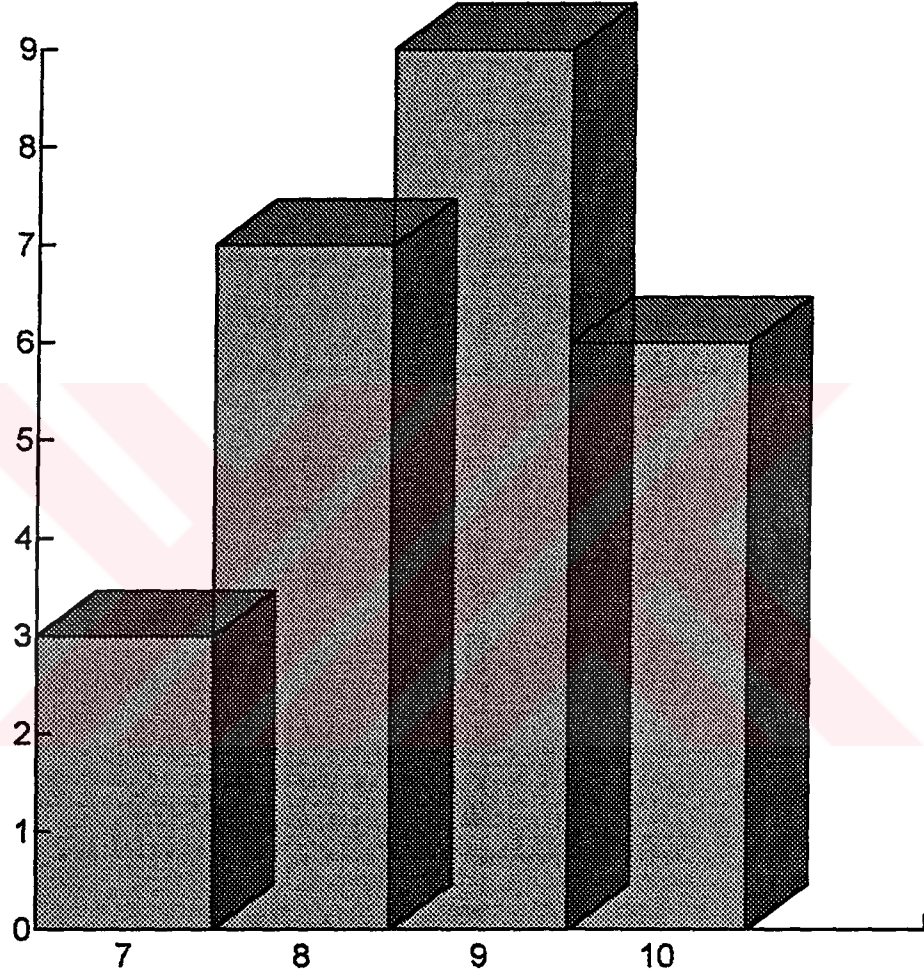
Hücre sayısı



DNA miktarı  
(pg)

Şekil 3.3: 1178-B kod numaralı diploid bitkide (2C) DNA miktarını gösteren histogram.

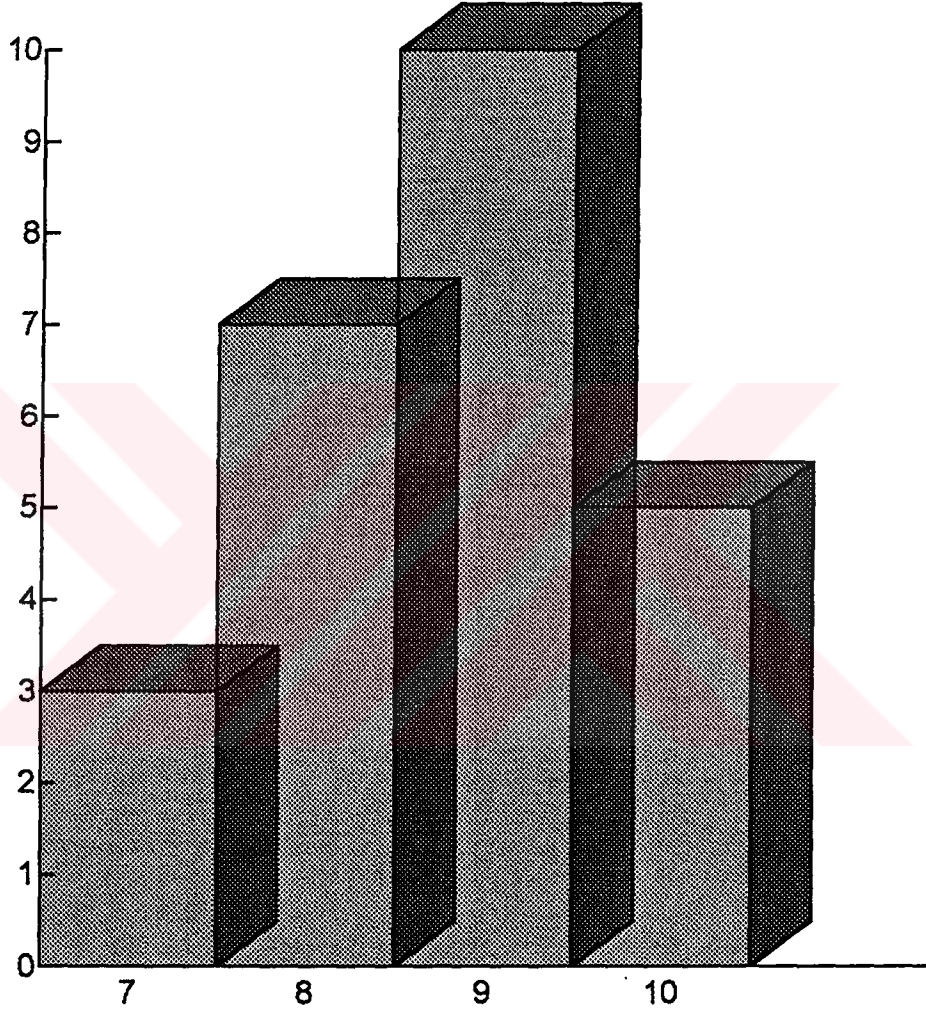
Hücre sayısı



DNA miktarı  
(pg)

Şekil 3.4.: H8 Kod numaralı diploid bitkide 2C DNA miktarını gösteren histogram

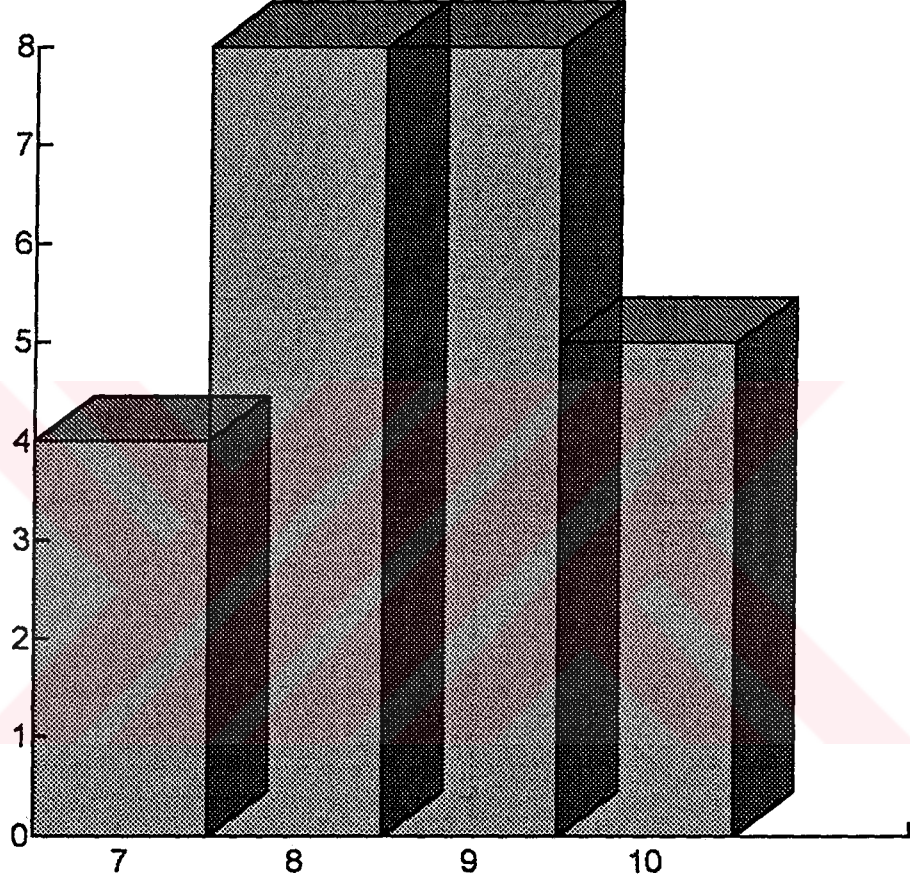
Hücre sayısı



DNA miktarı  
(pg)

Şekil 3.5.: 2C58-3 kod numaralı diploid bitkide (2C) DNA miktarını gösteren histogram.

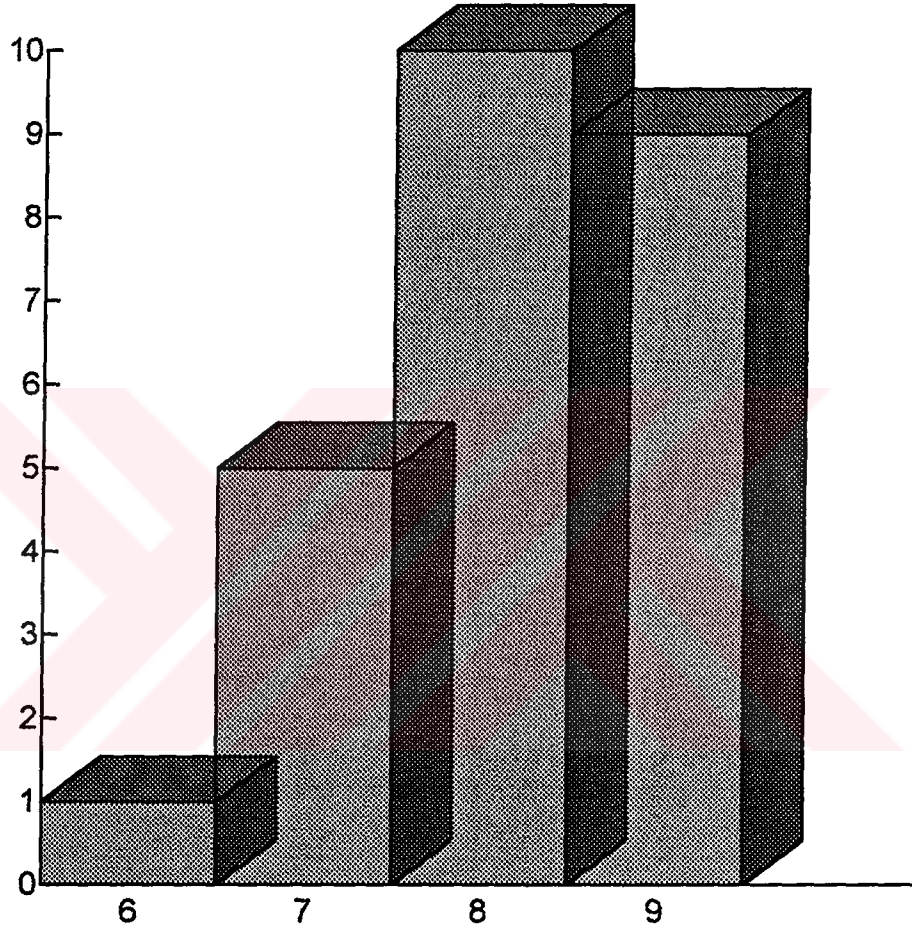
Hücre sayısı



DNA miktarı  
(pg)

Şekil 3.6.: A18C kod numaralı diploid bitkide (2C) DNA miktarını gösteren histogram.

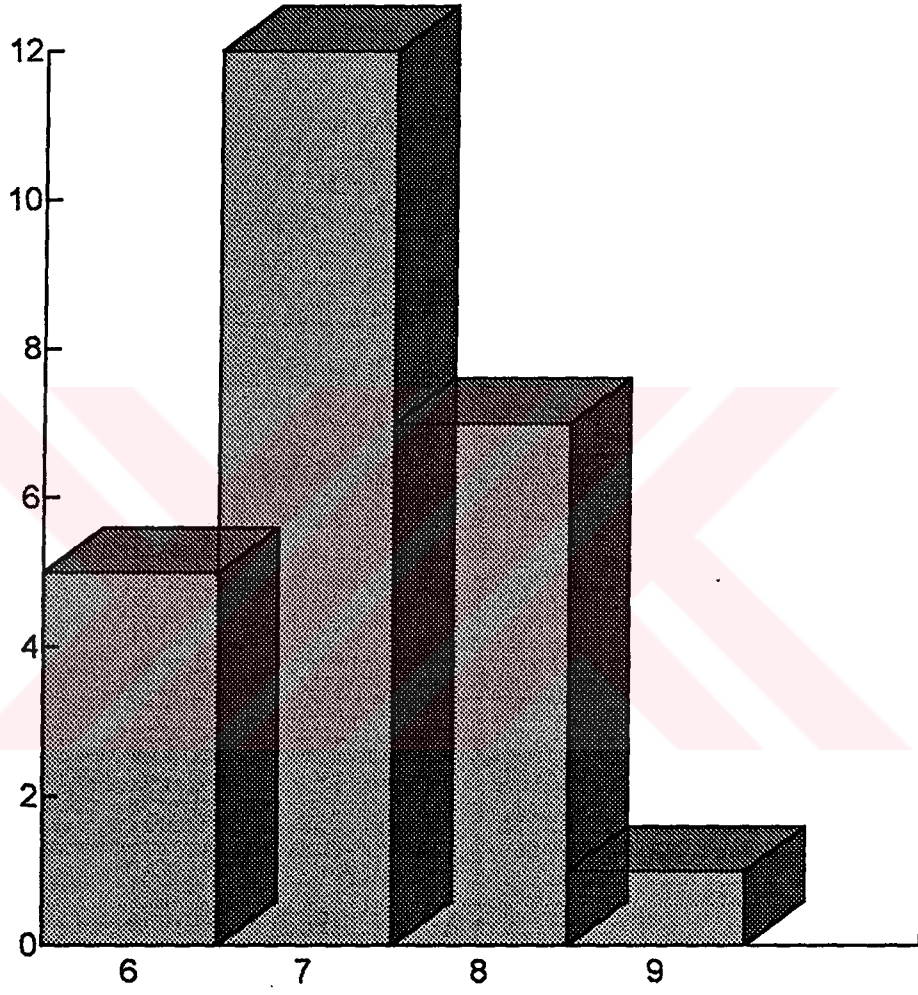
Hücre sayısı



DNA miktarı  
(pg)

Şekil 3.7.: LA7D kod numaralı diploid bitkide (2C) DNA miktarını gösteren histogram.

Hücre sayısı



DNA miktarı  
(pg)

Şekil 3.8.: Ural-2 kod numaralı diploid bitkide (2C) DNA miktarını gösteren histogram.

### 3.2. Ototetraploid Bitkilerde DNA Miktarı Ölçümleri

Çekirdek DNA miktarı ölçümleri 7 ototetraploid bitki üzerinde yapılmış ve ortalama DNA miktarı bu sitotip için  $15.57 \pm 0.27$  pg olarak hesaplanmıştır.

Ototetraploidlerin  $15.57$  pg'lik ortalama DNA miktarı, diploid sitotipin DNA miktarı ile karşılaştırıldığında, kromozom sayısının ototetraploidlerde iki kat olması sebebiyle, teorik olarak beklenen 1:2 (9.05:18.10) oranından oldukça düşüktür. Beklenen  $18.10$  pg değerinin yerine,  $15.57$  pg değerinin gözlenmesiyle Ototeraploidlerin diploid atalarından 2.0 kat değil, 1.72 kat daha fazla DNA miktarına sahip oldukları ortaya konmuştur.

Yedi bitkinin ortalama DNA miktarları  $15.20 \pm 1.0$  pg (LA7-11-A) ile  $16.03 \pm 0.7$  pg (Hg) arasında değişmektedir (Tablo 3.2). En yüksek ve en düşük DNA miktarlarını temsil eden bu iki bitki arasında  $0.83$  pg'lik bir fark bulunmuştur. Diploid bitkilerde ise bu değer  $1.76$  olarak bulunması Ototetraploidlerdeki DNA miktarı varyasyonunun daha düşük olduğunu göstermektedir.

Yedi ototetraploid bitki içinde en düşük DNA miktarı varyasyonuna sahip olan Hg kod numaralı bitkidir ( $16.03 \pm 0.7$ ). Bu bitkideki DNA miktarları 25 hücre arasında maksimum olarak  $17.42$  pg, minimum olarak ise  $14.90$  pg olarak tesbit edilmiştir (Tablo 3.2. ve Şekil 3.10.).

Diğer bitkiler (FO4X-1, FO4X-2, A14, A18-12-A, H16, LA7-11-A) ise yaklaşık olarak aynı seviyede bir varyasyona sahip bulunmuştur. Bunların DNA miktarı değerleri sırasıyla  $15.79 \pm 1.1$ ;  $15.69 \pm 1.0$ ;  $15.56 \pm 1.0$ ;  $15.46 \pm 1.0$ ;  $15.23 \pm 1.0$ ;  $15.20 \pm 1.0$  pg olarak tesbit edilmiştir (Tablo 3.2).

Ototetraploid bitkilerde toplam  $25 \times 7 = 175$  hücrenin DNA miktarı ölçümü yapılmış olup, bu hücrelerin %8.57'sinin 13; %26.28'inin 14; %32.57'sinin 15; %25.14'ünün 16; % 7. 42'sinin 17 pg civarında DNA miktarları sergilediği tesbit edilmiştir (Tablo 3.2. ve Şekil 3.9.) .

Hg kod numaralı bitkinin ölçüm yapılan hiçbir hücresinde 13 pg civarı DNA miktarı değerine rastlanılmamış olup, 14 pg civarı değeri ise %12' lik bir rastlanma sıklığına sahiptir ve bu değer ototetraploidler arasında en düşük oranda bu bitkide sergilenmiştir. Hg kod numaralı bitkide 15 pg civarı değeri % 44 oranında görülürken; 16 pg ve 17 pg civarı değerleri sırasıyla % 28 ve % 16' lik bir sıklıkla kendini göstermiştir. Bu bitki %44' lük 15 pg civarı değerini yedi ototetraploid bitki içinde en yüksek oranda gösteren bitki olarak tesbit edilmiştir (Tablo 3.2. ve Şekil 3.10.).

FO4X-1 bitkisi eşit yüzdelerde (%32) 14 ve 15 pg civarı DNA miktarı sergilerken, 16 ve 17 pg değeri ise sırasıyla %24 ve %12 oranında tesbit edilmiştir (Tablo 3.2. ve Şekil 3.11.).

FO4X-2 bitkisi hücrelerinin sadece %8 gibi küçük bir oranı 13 pg civarında DNA miktarına sahipken, hücrelerin %20' si 14 pg civarındadır. Bu bitkide 15 ve 16 pg civarı değeri eşit oranlarda tesbit edilmiştir (%32). 15 pg lik değer bu bitkide FO4X-1 bitkisinde de aynı oranda tesbit edilmiştir. Diğer ototetraploid bitkilerle kıyaslandığında en yüksek 16 pg civarı değerleri % 32' lik oranla bu bitkide görülmüştür. FO4X-2 bitkisi hücrelerinin sadece %8' lik bir kısmı ise 17 pg değeri göstermiştir (Tablo 3.2 ve Şekil 3.12 ).

DNA miktarı ölçümü gerçekleştirilen A14 kod numaralı bitkinin 25 hücresinin % 8' i 13 pg , % 24'ü 14 pg, %36' sı 15 pg, %28' i 16 pg ve % 4' ü 17 pg civarında DNA miktarı sergilemiştir (Tablo 3.2 ve Şekil 3.13 ). Bu bitkide FO4X-2 bitkisiyle aynı oranlarda 13 pg değeri rastlanma sıklığı görülmüştür. %36' lık bir 15 pg civarı rastlanma sıklığı sergileyen A14 bitkisi bu haliyle Hg bitkisinden sonra ikinci derecede en yüksek sıklıkla bu değeri sergileyen bitki olmuştur. Diğer taraftan, % 0 oranında 17 pg civarı DNA miktarı değeri gösteren H16 ve LA7-11-A dan sonra en düşük 17 pg civarı % 4 oranında bu bitkide tesbit edilmiştir.

A18-12-A kod numaralı bitkide 13 pg civarı değerleri % 12 oranında, 14 pg civarı değerleri % 28 oranında, 15 pg civarı değerleri % 32 oranında bulunmuştur. Bu bitki de % 16 oranında da 16 pg civarında değerlere rastlanmış olup, geri kalan hücreler ise (%12) 17 civarında bir değer göstermektedir (Tablo 3.2 ve Şekil 14 ). Bu bitkide FO4X-1 bitkisi ile

benzer oranlarda 17 (%12) ve 15 (%32) pg civarı DNA miktarına rastlanmıştır.

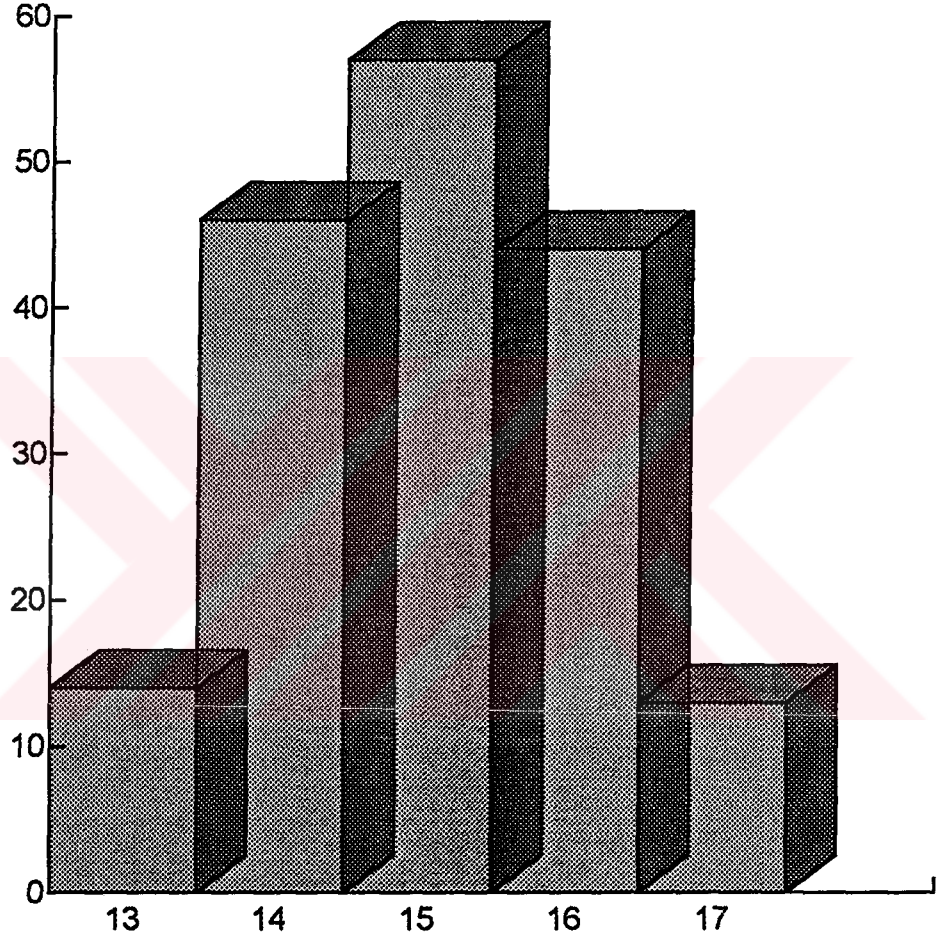
H16 bitkisi hücreleri %16 oranında 13 pg civarında bir DNA miktarı göstermiştir. %36 oranında 14 pg civarında değerler gösteren bu bitkide 15 pg' lik değerlerin oranı ise, 24 dır. %36 lık bir rastlanma sıklığı ile 14 pg civarı değeri en yüksek oranda H16 bitkisinde tesbit edilmiştir. Bu bitkide ölçümü yapılan hücrelerin hiç birinde 17 pg civarında bir değere rastlanmamış olup, % 24 oranında 16 pg civarı değerleri gözlenmiştir (Tablo 3.2 ve Şekil 3.15).

LA7 -11-A kod numaralı bitki H 16 ile aynı oranda (%16) 13 pg civarı değeri sergilemiş olup, % 32' lik bir 14 pg civarı değerine sahiptir. Bu bitkide 14 pg civarı değeri oranı FO4X-1 bitkisiyle, 13 pg civarı değeri ise H16 bitkisiyle aynı oranlardadır. LA7-11-A, 17 pg civarındaki değerleri üzerinde ölçüm yapılan hiçbir hücrelerinde göstermezken, % 28 oranında 15 pg civarı değeri ve %24 oranında da 16 pg civarı değerleri sergilemiştir (Tablo 3.2 ve Şekil 3.16 ). Bu bitki FO4X-1 ve H16 ile aynı oranlarda 16 pg DNA miktarı değerleri göstermiştir.

Tablo 3.2.: *P. media'* nin yedi ototetraploid bitkisinde pg olarak ortalama  
(4C) DNA miktarları

Hücre No	Hg	FO4X-1	FO4X-2	A14	A18-12 - A	H16	LA7-11-A
1	14.90	14.22	13.60	13.87	13.67	13.35	13.47
2	14.91	14.98	13.60	13.98	13.77	13.45	13.51
3	14.93	14.22	14.02	14.22	13.84	13.74	13.60
4	15.54	14.22	14.09	14.39	14.84	13.99	13.79
5	15.59	14.39	14.61	14.55	14.96	14.30	14.19
6	15.70	14.55	14.66	14.55	14.44	14.47	14.31
7	15.75	14.55	14.83	14.55	14.81	14.59	14.38
8	15.82	14.56	15.14	14.22	14.82	14.69	14.38
9	15.87	15.54	15.29	15.22	14.82	14.69	14.53
10	15.87	15.56	15.67	15.54	14.82	14.74	14.75
11	15.90	15.73	15.83	15.56	15.02	14.80	14.79
12	15.92	15.73	15.87	15.70	15.19	14.89	14.97
13	15.92	15.75	15.88	15.73	15.19	14.98	15.56
14	15.96	15.89	15.90	15.73	15.65	15.31	15.56
15	16.37	15.89	15.90	15.75	15.66	15.33	15.60
16	16.41	15.99	16.19	15.89	15.74	15.43	15.72
17	16.63	16.22	16.25	15.89	15.92	15.69	15.79
18	16.64	16.40	16.55	16.07	15.92	15.89	15.80
19	16.70	16.87	16.56	16.22	16.10	15.98	15.90
20	16.81	16.88	16.60	16.40	16.13	16.45	16.45
21	16.87	16.90	16.71	16.87	16.29	16.69	16.49
22	17.01	16.92	16.80	16.88	16.47	16.77	16.49
23	17.30	17.60	16.80	16.90	17.38	16.79	16.64
24	17.38	17.61	17.00	16.92	17.57	16.89	16.64
25	17.42	17.67	17.02	17.60	17.57	16.99	16.93
Ortalama X=	16.03	15.79	15.69	15.61	15.46	15.23	15.20

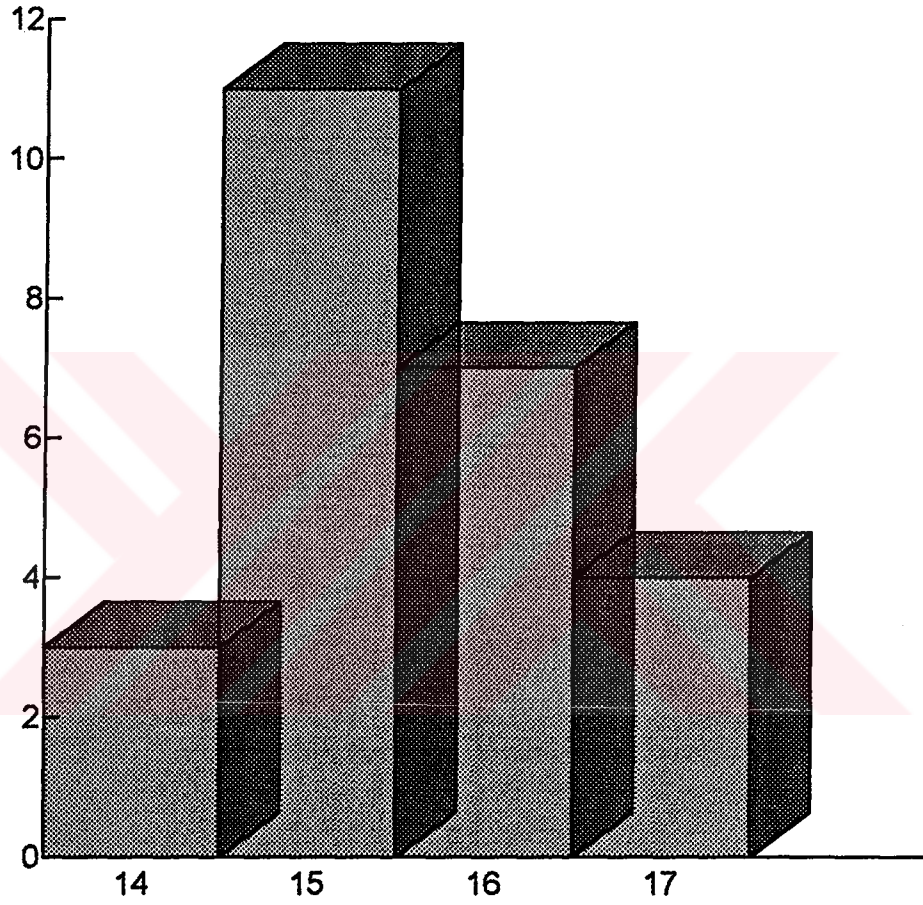
Hücre sayısı



DNA miktarı  
(pg)

Şekil 3.9.: Yedi ototetraploid *P. media* bitkisinde (4C) DNA miktarını gösteren histogram.

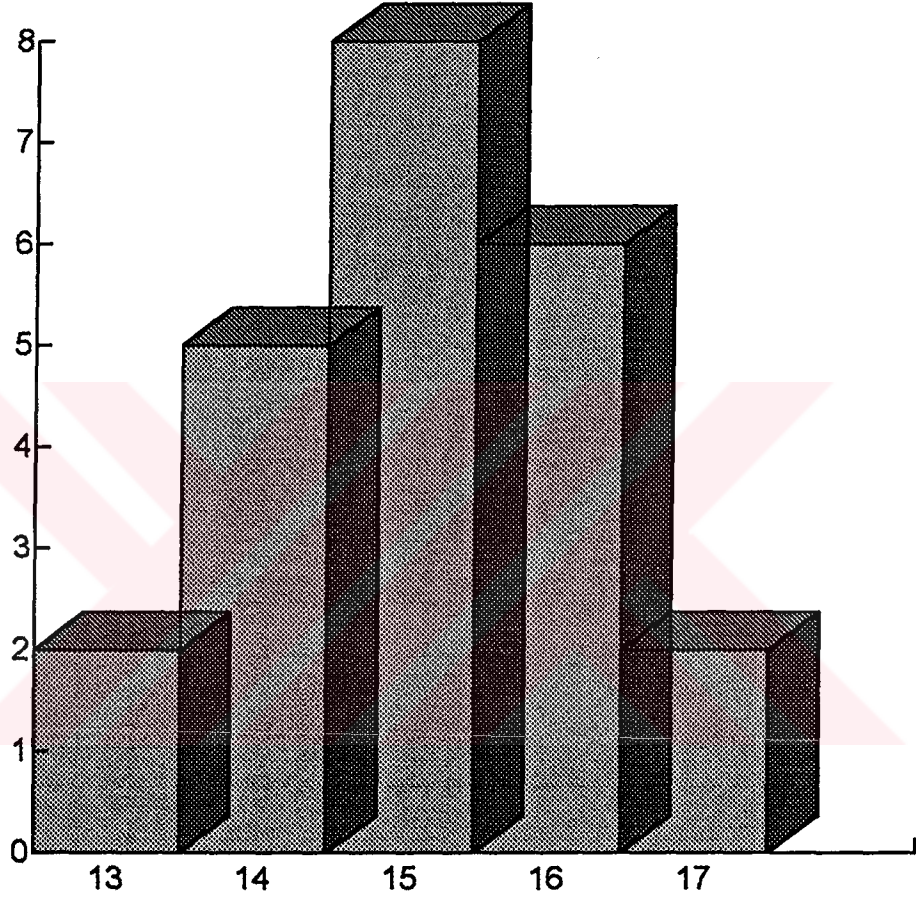
Hücre sayısı



DNA miktarı  
(pg)

Şekil 3.10.: Hg kod numaralı ototetraploid bitkide (4C) DNA miktarını gösteren histogram.

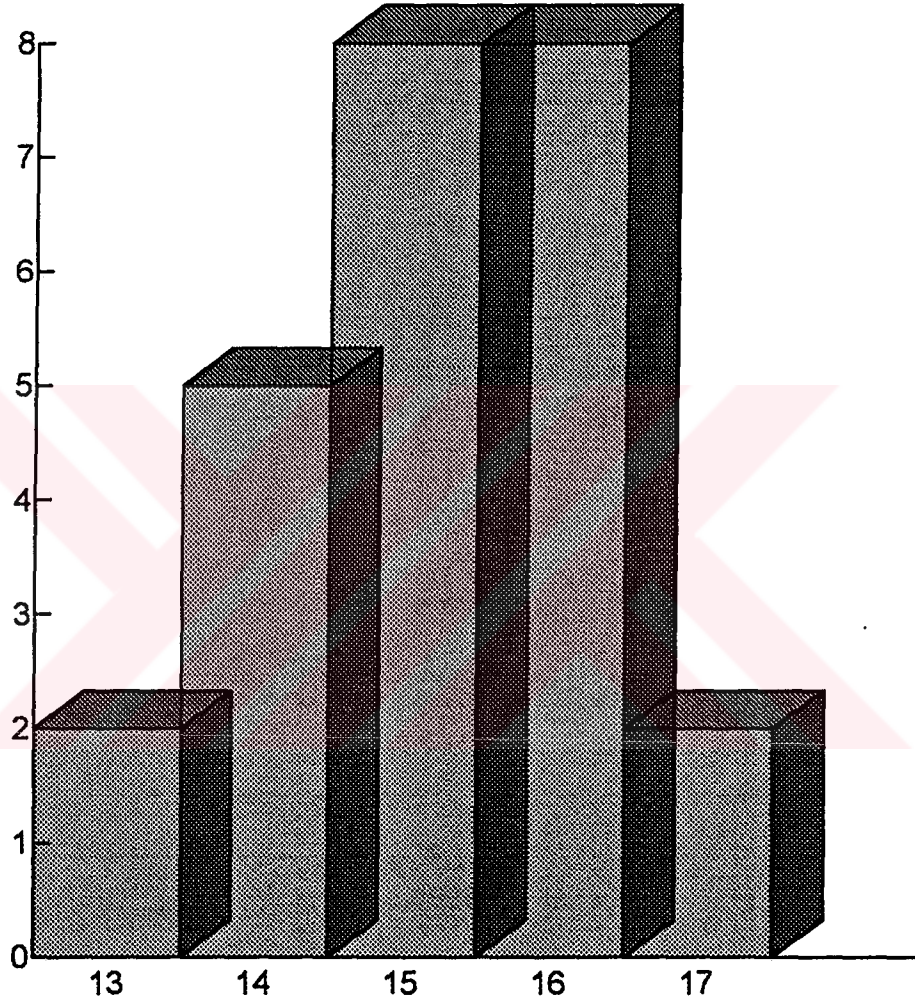
Hücre sayısı



DNA miktarı  
(pg)

Şekil 3.11.: FO4X-1 kod numaralı ototetraploid bitkide (4C) DNA miktarını gösteren histogram.

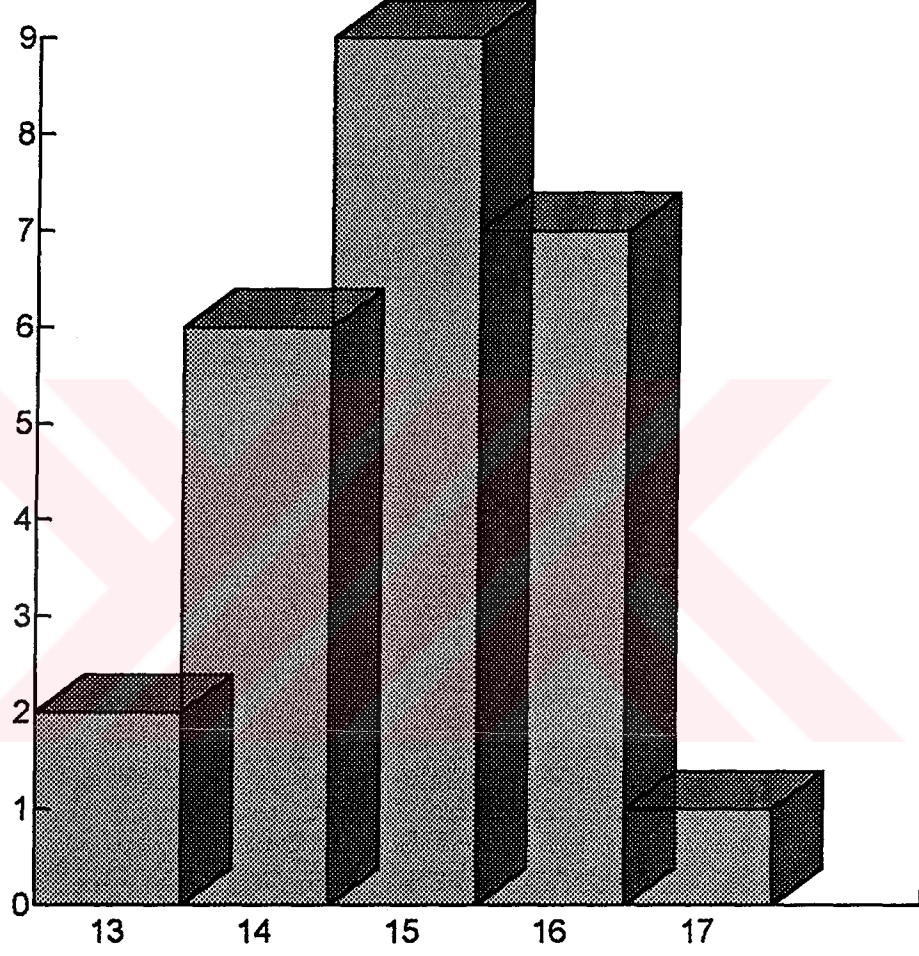
Hücre sayısı



DNA miktarı  
(pg)

Şekil 3.12.: FO4X-2 kod numaralı ototetraploid bitkide (4C) DNA miktarını gösteren histogram.

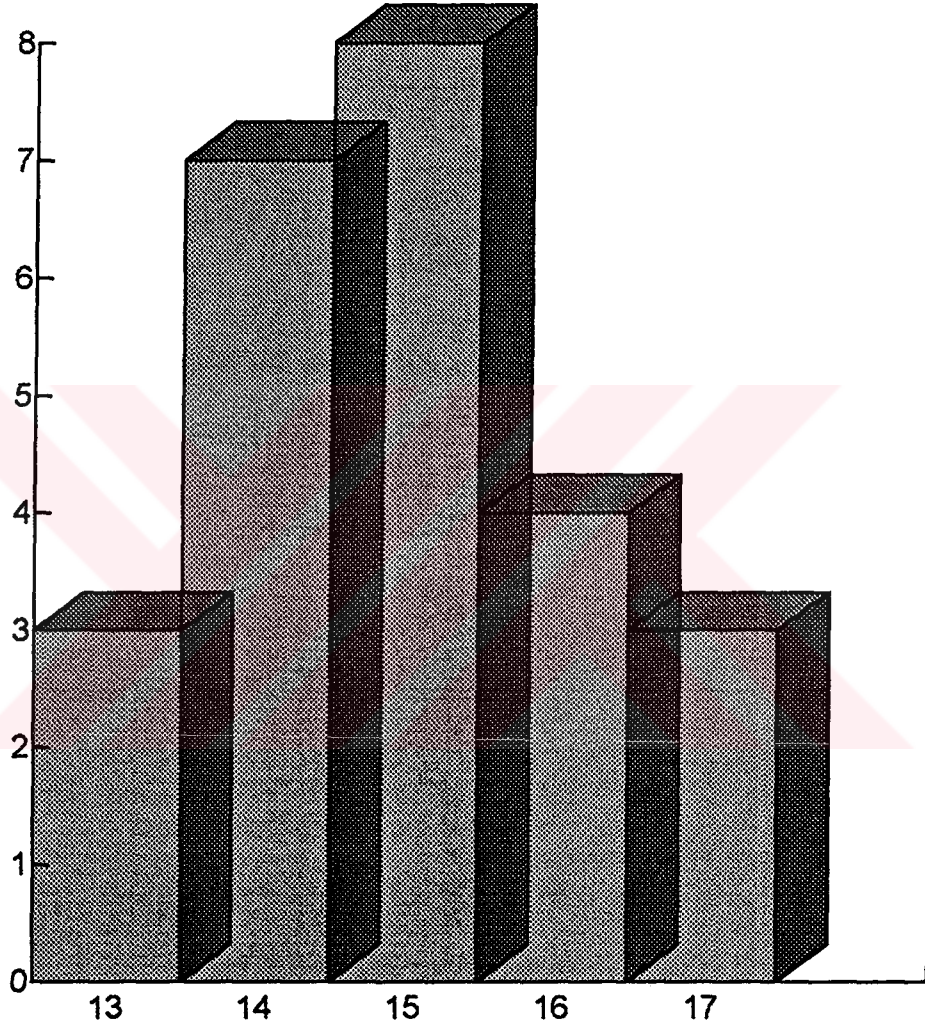
Hücre sayısı



DNA miktarı  
(pg)

Şekil 3.13.: A14 kod numaralı ototetraploid bitkide (4C) DNA miktarını gösteren histogram.

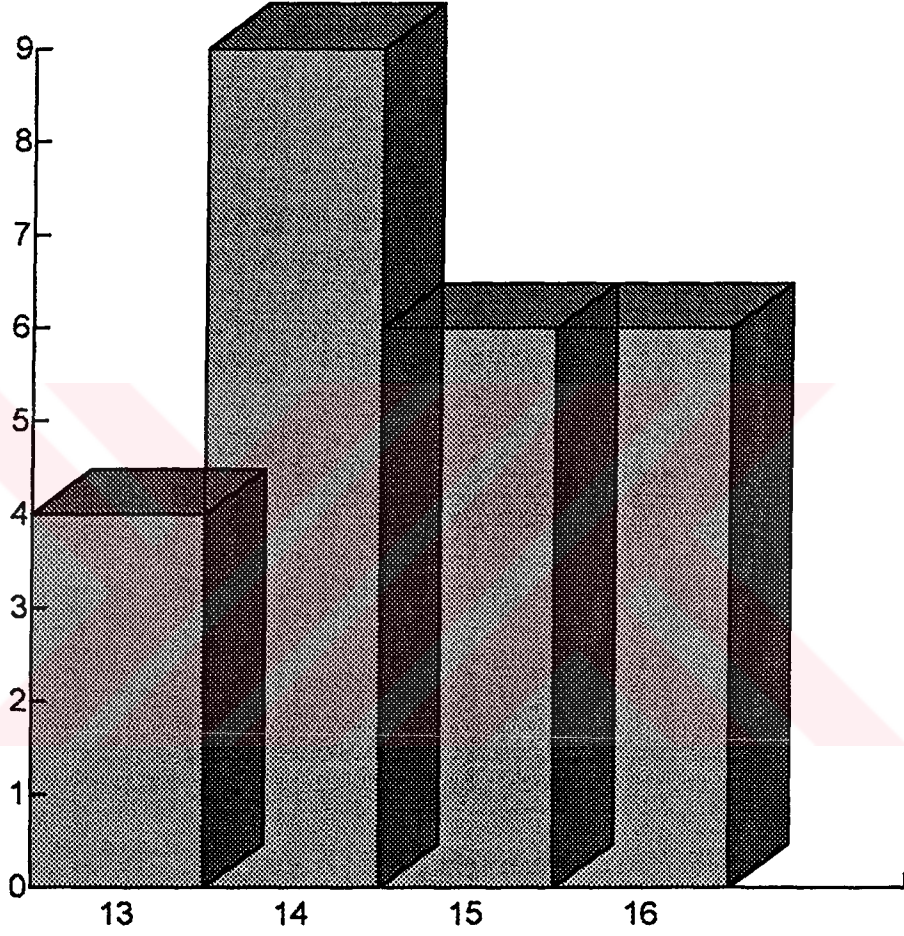
Hücre sayısı



DNA miktarı  
(pg)

Şekil 3.14.: A18-12A kod numaralı ototetraploid bitkide (4C) DNA miktarını gösteren histogram.

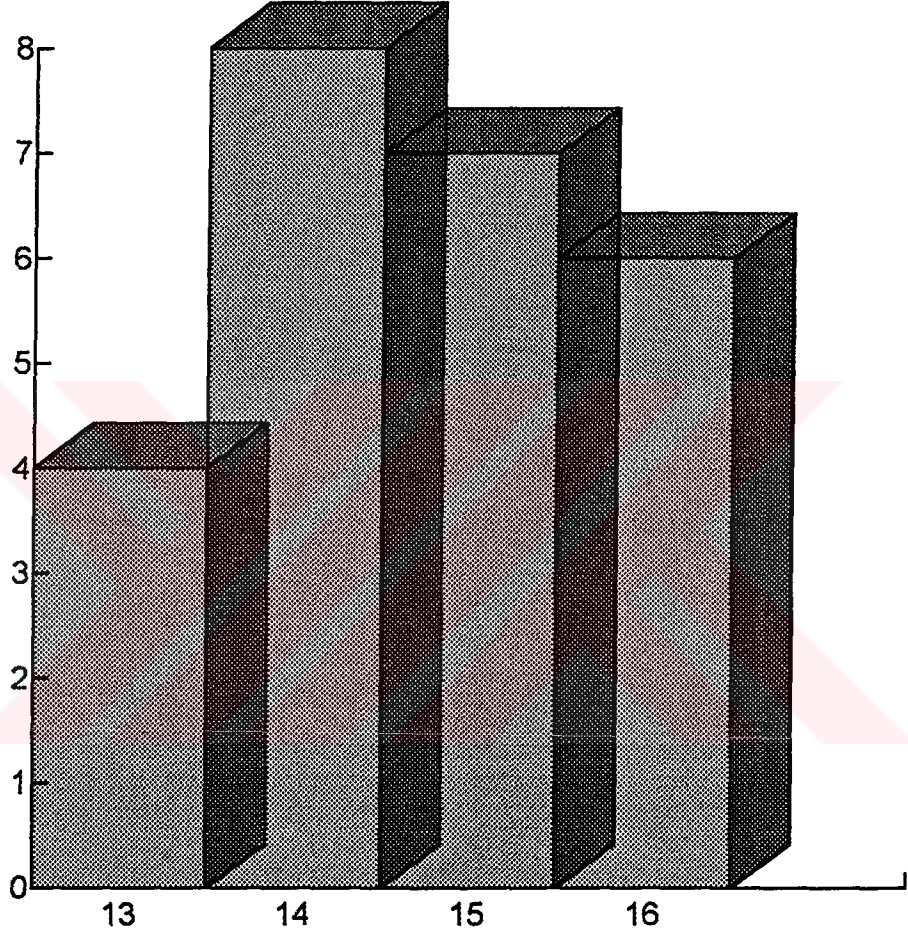
Hücre sayısı



DNA miktarı  
(pg)

Şekil 3.15.: H16 kod numaralı ototetraploid bitkide (4C) DNA miktarını gösteren histogram.

Hücre sayısı



DNA miktarı  
(pg)

Şekil 3.16.: LA7-11A kod numaralı ototetraploid bitkide (4C) DNA miktarını gösteren histogram.

### 2.3. Kolşisinle İndüklenmiş Tetraploid Bitkilerde DNA Miktarı Ölçümleri

Çekirdek DNA sı ölçümleri kolşisinle indüklenmiş 7 *P.media* bitkisinde yapılmıştır. Yapay tetraploidlerin ortalama DNA miktarı  $18.23 \pm 0.27$  olarak bulunmuştur. Diploid bireylerin DNA miktarı oranı olan 9.05 pg göz önüne alındığında, teorik olarak yapay tetraploidlerde beklenen  $9.05 \times 2=18.10$  pg değeri, gözlenen 18.23 pg değerinden yalnızca 0.13 pg' lik bir fark arz etmektedir. Diğer bir deyimle, yapay tetraploidlerin 18.23 pg olan DNA miktarı değeri, diploidlerin 9.05 pg olan DNA miktarı değerinden sadece 2.01 kat fazladır. Bu durum, diploid sitotipin DNA miktarı olan 9.05 ile karşılaştırıldığında yapay tetraploidlerin kromozom sayılarının diploidlerin iki katı olması dolayısıyla teorik olarak beklenen 1:2 (9.05:18.23) oranına yakınlığın söz konusu olduğunu göstermektedir.

Yedi bitkinin DNA miktarı ortalamaları  $17.87 \pm 0.6$  (C65) ila  $18.67 \pm 0.7$  (C70-3) arasında değişmektedir (Tablo 3.3 ). Bu en düşük ve en yüksek DNA miktarını temsil eden bitkiler arasında 0.80 pg lik bir fark bulunmuştur. Bu fark diploidlerde 1.76 gibi nisbeten büyük bir rakam iken, ototetraploidlerde 0.83 dür ve yapay tetraploidlerinkine yakın bir değerdir. Bu durum ototetraploidlerin DNA varyasyonunun diploidlerinkinden düşük olduğunu göstermektedir.

Yedi yapay tetraploid bitki arasında en düşük DNA miktarı varyasyonu C58-3 ( $18.24 \pm 0.5$ ) ve C58-5 kod numaralı bitkilerde ( $18.10 \pm$

0.5) görülmüştür. Bu bitkilerden C58-3 de ölçümü yapılan 25 hücre içinde en düşük DNA miktarı 17.50 pg, en yüksek DNA değeri ise, 19.27 iken; C58-5 de aynı değerler en düşük 16.90 ve en yüksek 19.01 olarak bulunmuştur.

Ortalama DNA değerleri açısından en yüksek ve en düşük değerlere sahip bitkilerin dışında kalan yapay tetraploid bitkiler C70-2, C40, C58-3, C58-5, C58-2 dir. Bunlar sırasıyla  $18.48 \pm 0.7$ ,  $18.40 \pm 0.8$ ,  $18.24 \pm 0.5$ ,  $18.10 \pm 0.5$  ve  $17.89 \pm 0.7$  pg DNA değerlerine sahiptir (Tablo 3.3 ).

Üzerinde ölçüm yapılan toplam  $25 \times 7 = 175$  yapay tetraploid *P.media* kök ucu hücresinde % 6.85 oranında 16 pg; % 33.14 oranında 17 pg; % 41.14 oranında 18 pg ve % 18.85 oranında da 19 pg civarında DNA miktarı değerlerine rastlanmıştır (Tablo 3.3 ve Şekil 3.17 ).

En yüksek DNA miktarına sahip C70-3 bitkisinde 16 pg' lik DNA miktarına sahip hiç bir hücreye rastlanmamıştır. Bu bitkide 17 pg civarı değeri %24' lük bir orana sahip iken, 18 pg ve 19 pg civarı değerleri sırasıyla % 36 ve %40 lık oranlara sahiptirler. % 40' lık bu 19 pg civarı değeri 7 bitki içinde en yüksek olarak C70-3 bitkisinde görülmüştür. (Tablo 3.3 ve Şekil 3.18 )

C70-2 kod numaralı bitkide 16 pg civarı değeri %8, 17 pg civarı değeri C70-3 bitkisi ile benzer oranlarda olacak bir biçimde %24, 18 pg

civarı değeri %32 ve 19 pg civarı değeri de %36 oranında bulunmuştur (Tablo 3.3 ve Şekil 3.19 ).

C40 bitkisi hücreleri eşit oranlarda (%36) 18 ve 19 pg değerlerini sergilerken, 17 pg değerini % 28 oranında sergilemiştir. Bu bitkide 16 pg değerine hiç rastlanmıştır (Tablo 3.3 ve Şekil 3.20 ).

C58-3 kod numaralı bitkide 16 pg civarı DNA miktarı değeri hiç gözlenmezken, 18 ve 19 pg civarı değerleri sırasıyla %44 ve % 16 rastlanma sıklığı göstermiştir (Tablo 3.3 ve Şekil 3.21 ).

C58-5 bitkisi hücrelerinin sadece % 4 gibi küçük bir oranı 16 pg ve 19 pg civarında DNA miktarları sergilerken, 17 pg ve 18 pg civarı değerleri sırasıyla %40 ve %52 oranlarında görülmüştür. %52' lik bu 18 pg değeri diğer bitkilerle kıyaslandığında en yüksek olarak C58-5 bitkisinde gözlenmiştir. %40' lık 17 pg değeri ise bu bitki ve C58-3 bitkisinde eşit olarak bulunmuş olup, bu yüzde diğer yedi bitki içinde C65 kod numaralı bitkiden sonra (%44) 17 pg için tesbit edilen en yüksek değerdir (Tablo 3.3 ve Şekil 3.22 ).

C58-2 bitkisinde 19 pg civarı değeri gözlenmemiş olup, 16 pg civarı değerini ise kolşisinle muamele edilmiş diğer bitkiler arasında en yüksek oranda (%20) gösteren bitki olma özelliğindedir. Ayrıca %48' lik bir 18 pg civarı değeriyle bu bitki C58-5 bitkisinden sonra (%52) ikinci en yüksek 18 pg değerini gösteren bitki konumundadır (Tablo 3.3 ve Şekil 3.23 ).

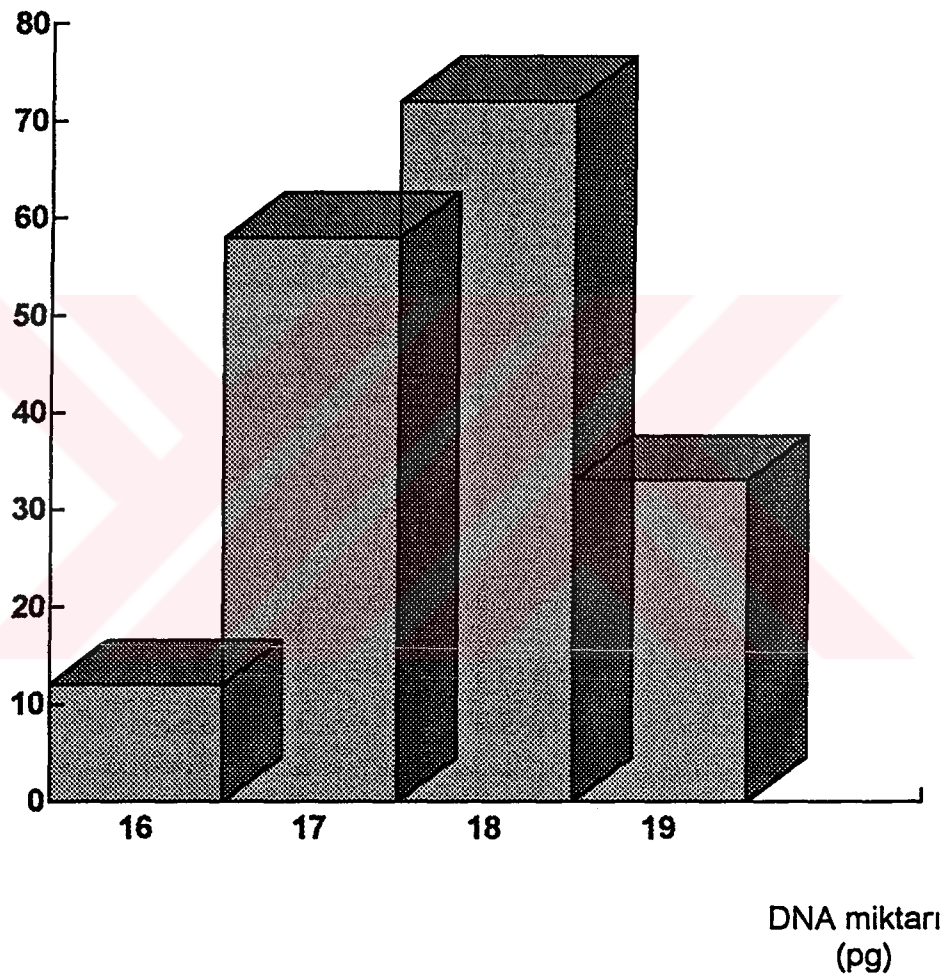
C65 kod numaralı bitkide 19 pg civarı değerine rastlanmamıştır. Bu bitki 16 pg civarı değerini %16 ve yedi bitki içerisinde 17 pg civarı değerini en yüksek oranda (%44) sergileyen bitki olmuştur. 18 pg civarı değeri bu bitkide %40 oranındadır (Tablo 3.3 ve Şekil 24. ).



Tablo 3.3.:Kolşisinle indüklenmiş yedi tetraploid *P. media* bitkisinde pg olarak ortalama (4C) DNA miktarları.

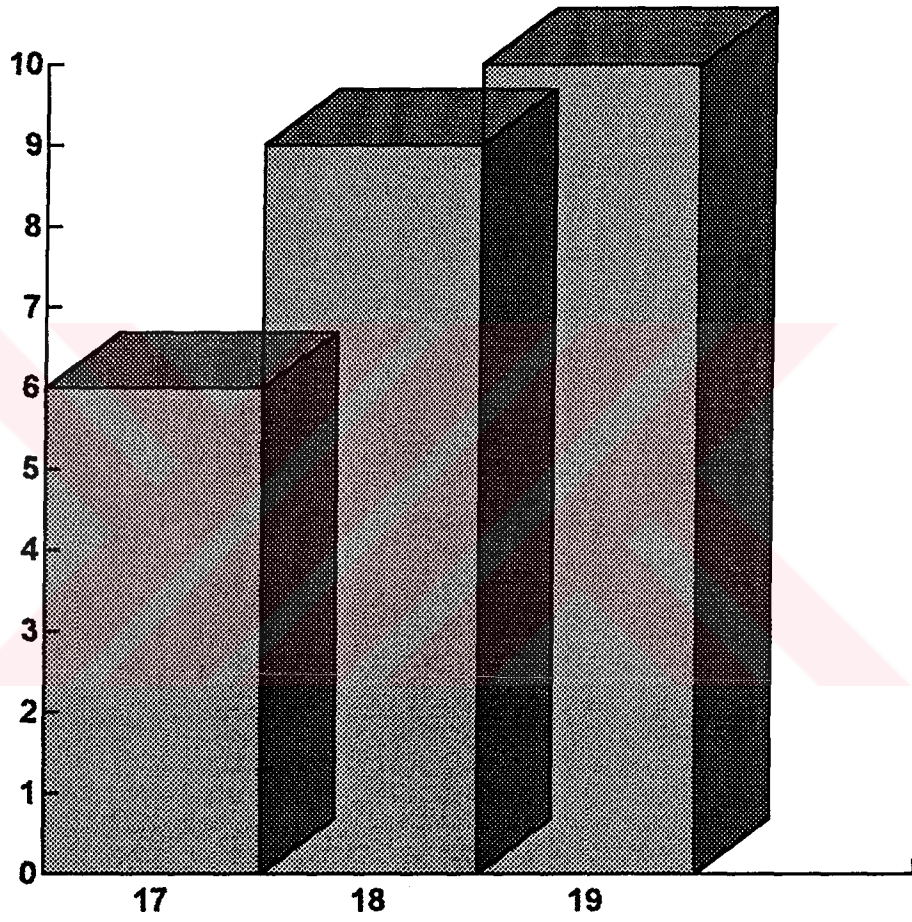
Hücre no	C70-3	C70-2	C40	C58-3	C58-5	C58-2	C65
1	17.20	16.80	17.10	17.50	16.90	16.49	16.89
2	17.23	16.98	17.14	17.50	17.30	16.64	16.92
3	17.38	17.01	17.17	17.59	17.42	16.73	16.92
4	17.65	17.22	17.37	17.66	17.43	16.98	16.99
5	17.97	17.31	17.45	17.68	17.51	16.98	17.13
6	17.97	17.56	17.57	17.77	17.57	17.30	17.22
7	18.04	17.72	17.61	17.78	17.64	17.49	17.36
8	18.11	17.90	18.88	17.82	17.65	17.57	17.48
9	18.31	18.07	18.01	17.84	17.77	17.59	17.49
10	18.44	18.24	18.23	17.90	17.82	17.60	17.63
11	18.50	18.24	18.29	18.00	17.99	17.63	17.67
12	18.68	18.25	18.30	18.03	18.11	17.66	17.67
13	18.77	18.66	18.41	18.09	18.13	17.98	17.68
14	18.80	18.70	18.43	18.21	18.18	18.13	17.83
15	18.87	18.88	18.51	18.37	18.29	18.33	17.98
16	19.27	18.91	18.59	18.37	18.37	18.39	18.22
17	19.33	19.45	19.10	18.51	18.50	18.39	18.35
18	19.49	19.49	19.21	18.58	18.55	18.39	18.37
19	19.44	19.49	19.27	18.61	18.68	18.40	18.39
20	19.55	19.51	19.27	18.61	18.69	18.66	18.39
21	19.55	19.55	19.31	18.88	18.74	18.67	18.53
22	19.55	19.55	19.37	19.13	18.79	18.69	18.88
23	19.60	19.57	19.40	19.22	18.79	18.79	18.92
24	19.60	19.57	19.41	19.27	18.82	18.88	18.94
25	19.61	19.59	19.47	19.27	19.01	18.91	18.97
Ortalama X=	18.67	18.48	18.40	18.24	18.10	17.89	17.87

Hücre sayısı



Şekil 3.17.: Kolşisinle indüklenmiş yedi tetraploid *P. media* bitkisinde (4C) DNA miktarlarını gösteren histogram.

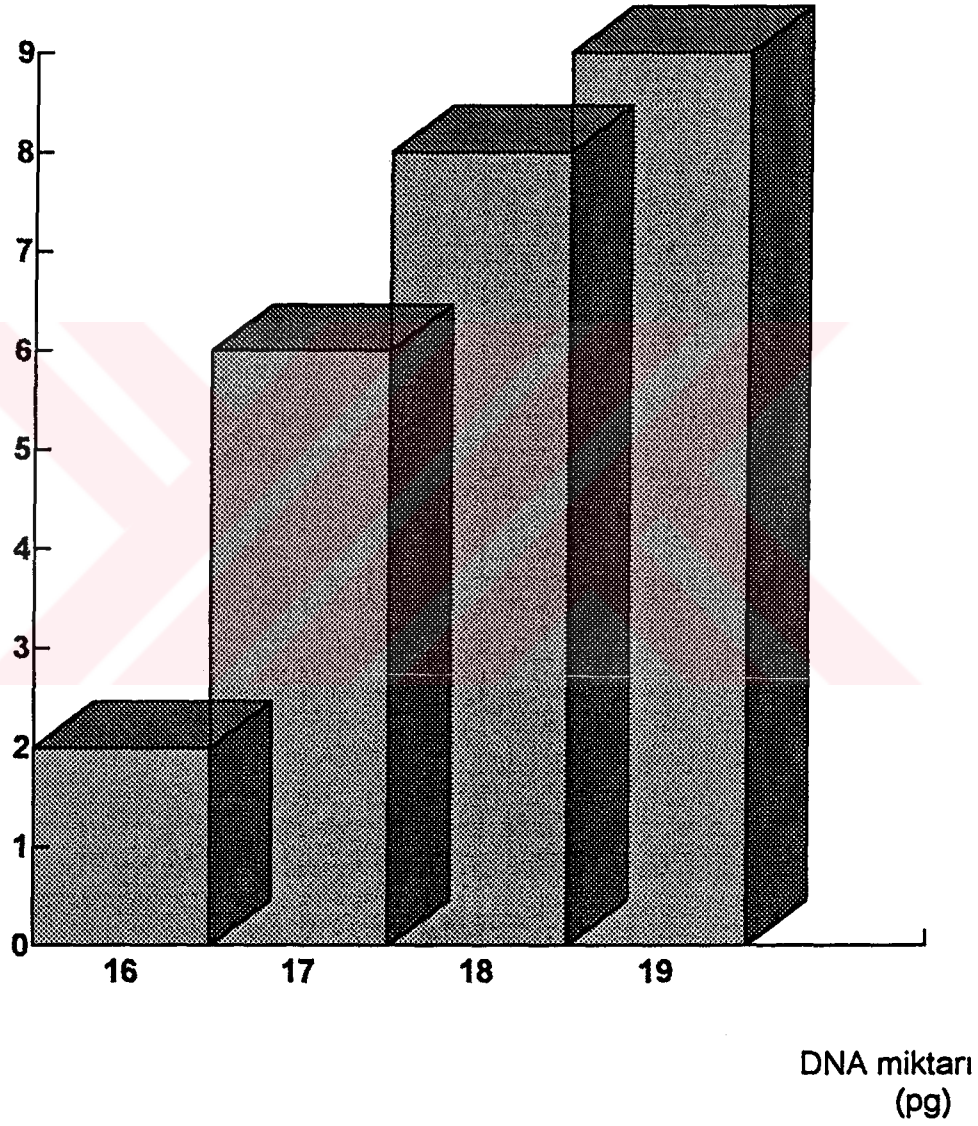
Hücre sayısı



DNA miktarı  
(pg)

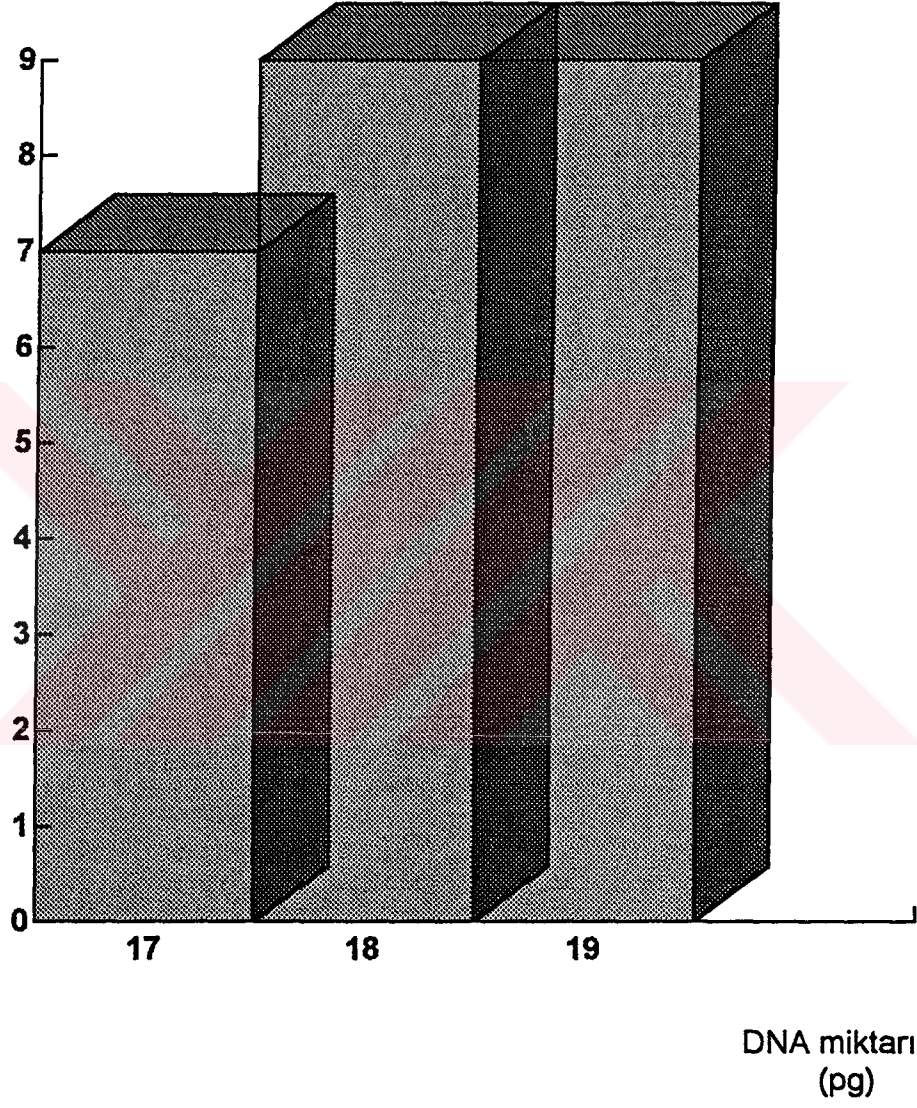
Şekil 3.18.: C70-3 kod numaralı yapay tetraploid bitkide (4C) DNA miktarını gösteren histogram.

Hücre sayısı



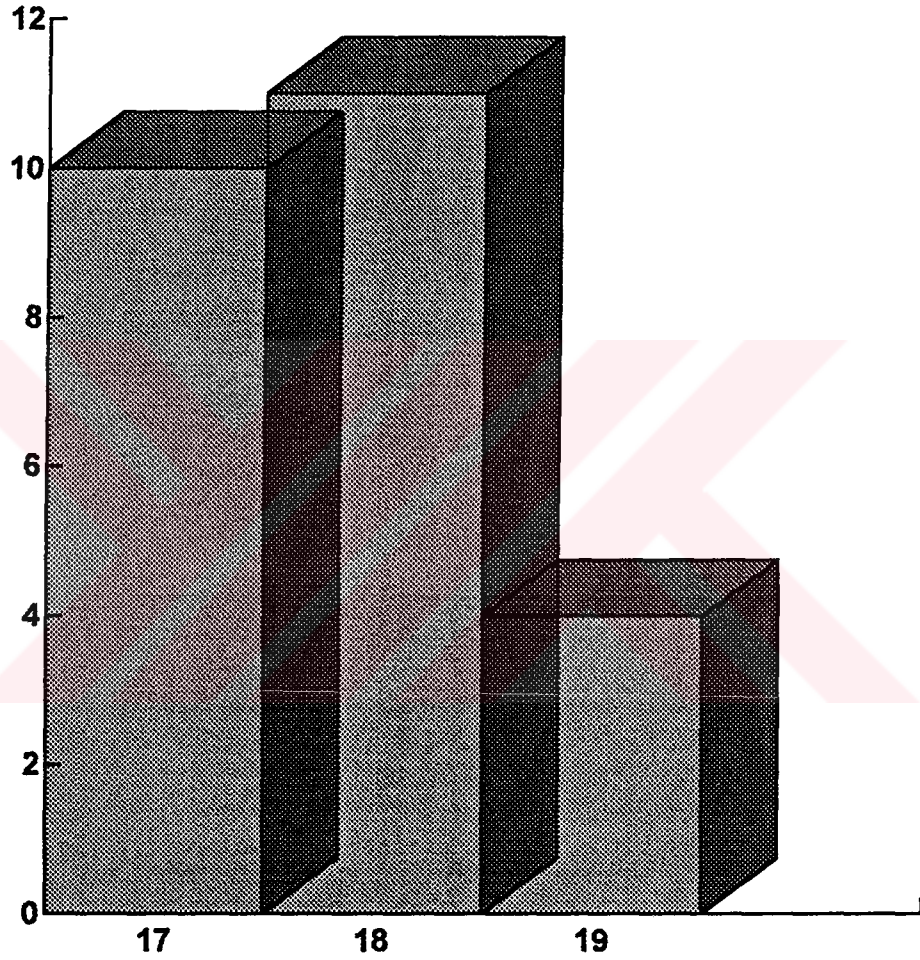
Şekil 3.19.: C70-2 kod numaralı yapay tetraploid bitkide (4C) DNA miktarını gösteren histogram.

Hücre sayısı



Şekil 3.20.: C40 kod numaralı yapay tetraploid bitkide (4C) DNA miktarını gösteren histogram.

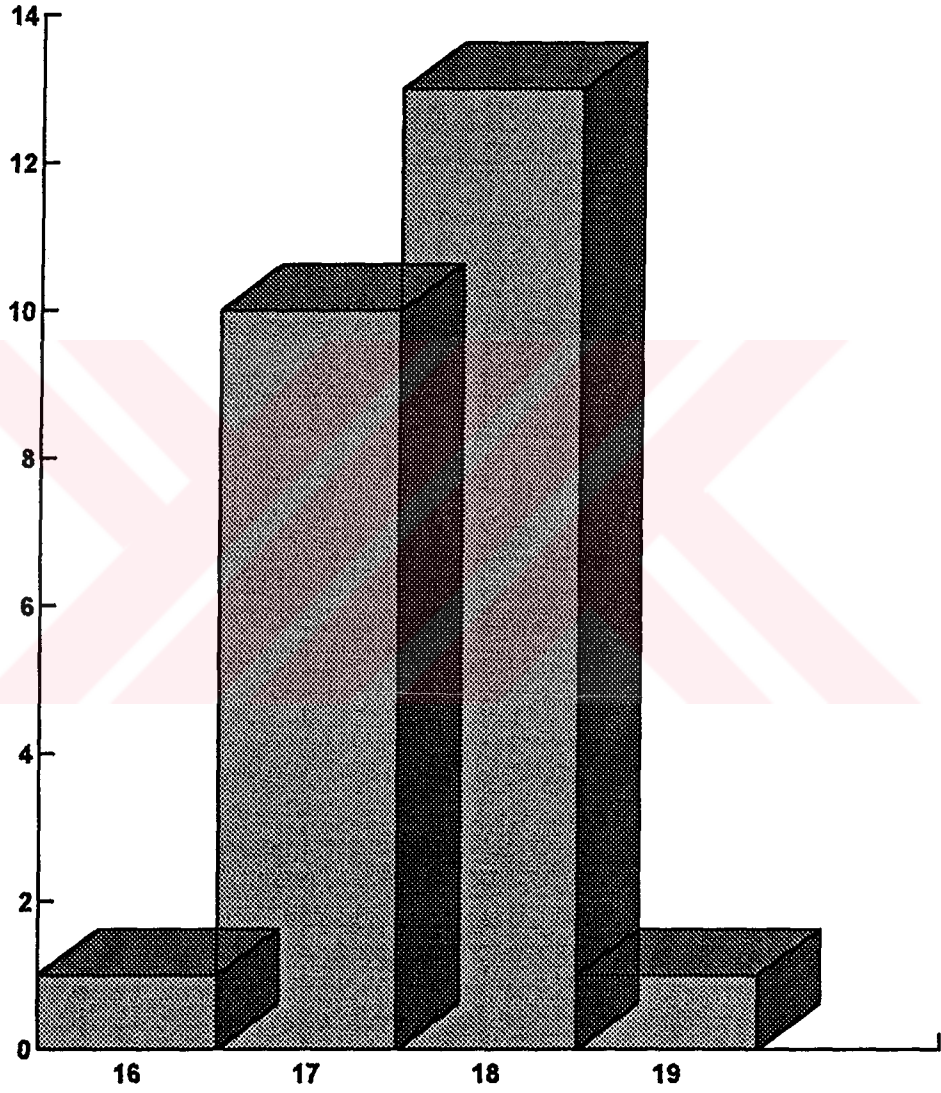
Hücre sayısı



DNA miktarı  
(pg)

Şekil 3.21.: C58-3 kod numaralı yapay tetraploid bitkide (4C) DNA miktarını gösteren histogram.

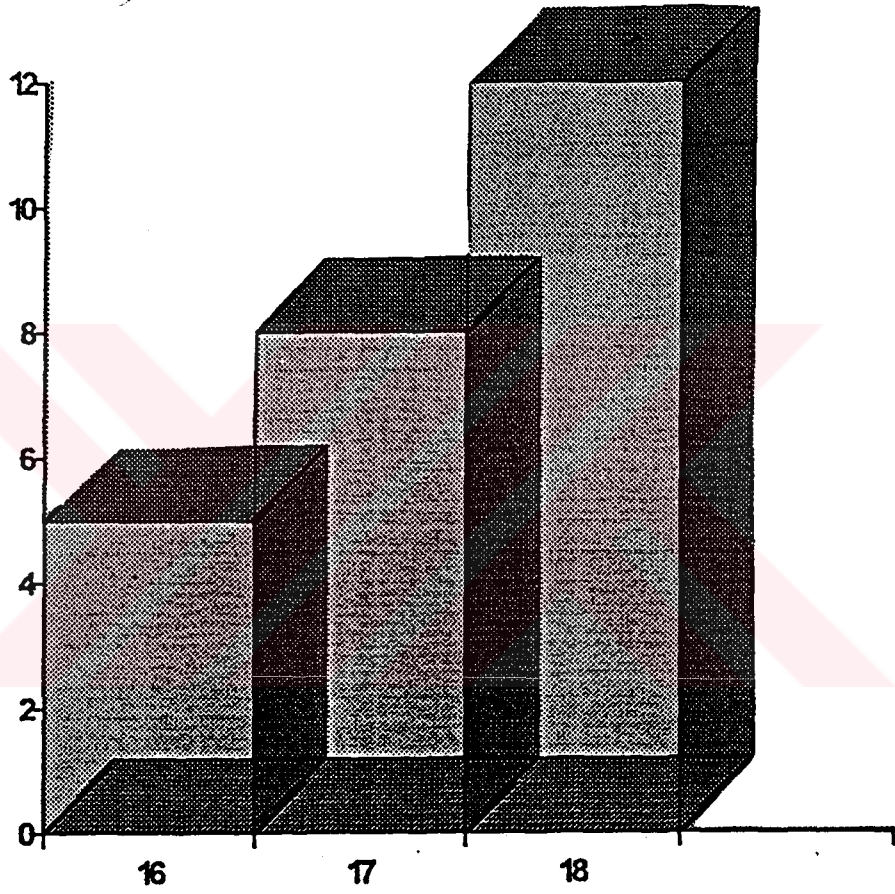
Hücre sayısı



DNA miktarı  
(pg)

Şekil 3.22.: C58-5 kod numaralı yapay tetraploid bitkide (4C) DNA miktarını gösteren histogram.

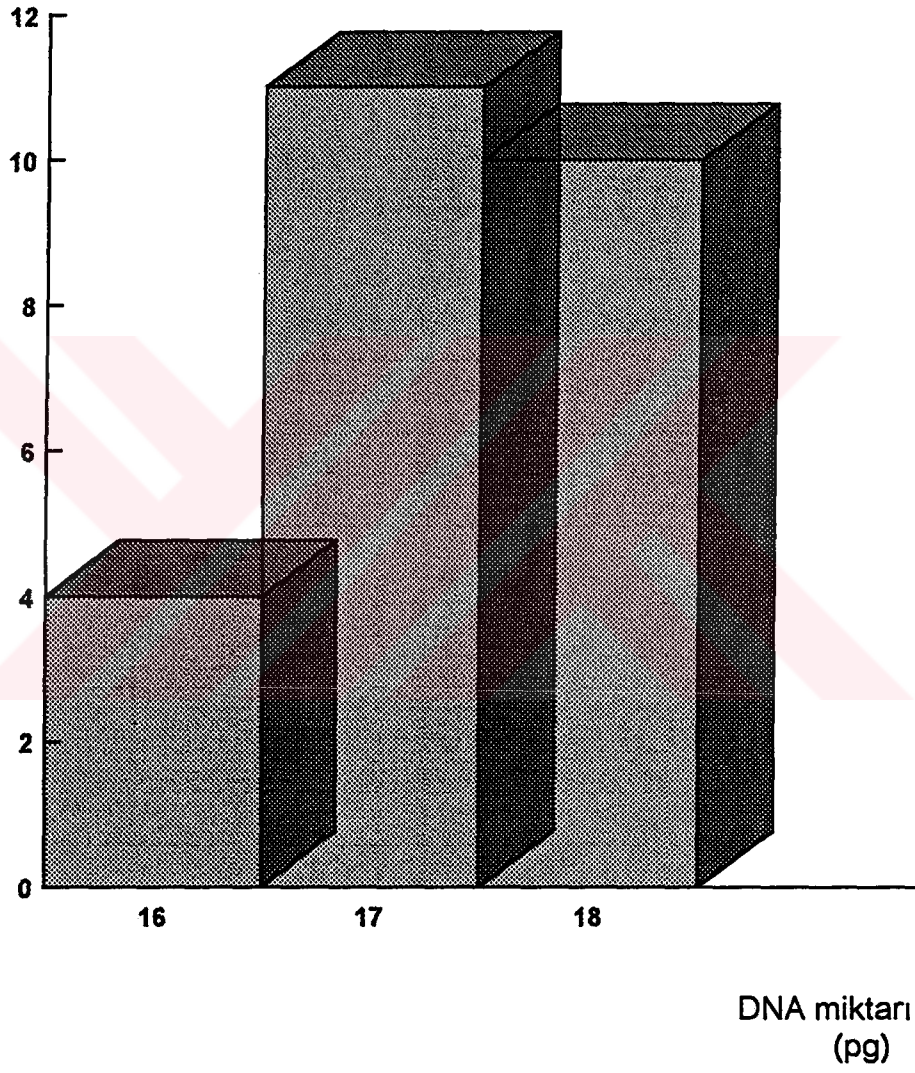
Hücre sayısı



DNA miktarı  
(pg)

Şekil 3.23. C58-2 kod numaralı yapay tetraploid bitkide (4C) DNA miktarını gösteren histogram.

Hücre sayısı



Şekil 3.24.: C65 kod numaralı yapay tetraploid bitkide (4C) DNA miktarını gösteren histogram.

## 4. SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER

### 4.1. Sonuç ve Tartışma

*P. media* üzerinde daha önce yapılan genetik çalışmalar; kromozom sayımı (Mc Cullagh, 1934; Sugiura, 1939; Rahn 1954; 1957; Van Dijk and Van Delden, 1990; Van Dijk, 1991; Öner, 1993), karşılaştırmalı karyotip analizleri (Öner, 1993), karşılaştırmalı mayotik çalışmalar (Rahn, 1954; 1957; Öner, 1993), karşılaştırmalı Elektron Mikroskopik Synaptonemal Kompleks analizleri (Öner, 1993) ve Southern Blotting tekniği ile yapılan karşılaştırmalı rDNA varyasyon çalışmalarını (Öner, 1993) içermektedir.

Bu çalışma *P. media* üzerinde yapılan ilk DNA miktarı raporudur ve bu türün farklı ploidi (diplodi, ototetraploidi ve yapay tetraploidi) düzeylerinde karşılaştırmalı ilk çalışma olma niteliğindedir. Ayrıca *Plantago* cinsinde yapılan ilk DNA miktarı çalışmasıdır.

*P. media* poliploidlerinin ototetraploid tabiat arz ettiği daha önceki araştırmalarda da rapor edilmiştir (Van Dijk and Van Delden, 1990; Van Dijk, 1991; Öner, 1993). Bu tez ototetraploid yapının DNA miktarı açısından ilk delillerini sergileme özelliğindedir.

Diploid bitkilerde üzerinde ölçüm yapılan yedi bitkinin ortalama DNA miktarı  $9.05 \pm 0.49$  pg olarak bulunmuştur. Bu bitkiler içerisinde en düşük DNA miktarını temsil eden bitki olan Ural-2 ( $7.99 \pm 0.87$  pg) ile en yüksek DNA miktarını temsil eden bitki 2C70-5 ( $9.75 \pm 0.80$ ) arasındaki 1.76 pg lik farka ve yedi bitkinin ortalama DNA miktarlarına bakıldığında iki bitki LA7D ve Ural-2 in sırasıyla 8 ve 7 pg civarında DNA miktarına sahip olmalarına rağmen geri kalan beş bitkinin 9 pg civarında bir değere sahip olması, diploid bitkilerde çok yaygın olmasa da bir varyasyonun varlığını göstermektedir.

Diploid *P. media* bireyleri arasındaki benzer varyasyonlar, daha önce yapılan elektron mikroskop Synaptonemal Kompleks ve rDNA varyasyon analizlerinde de rapor edilmiştir (Öner, 1993).

Aynı tür içindeki bireyler arasındaki DNA miktarı varyasyonları *Trypanosoma cruzi*'de de gözlenmiştir (Dvorak et al., 1982; Kooy et al., 1989). Kooy et al. (1989) bu farkların bireylerin uzun zaman önce genetik olarak izole edilmelerinden kaynaklanabileceğini ileri sürmüştür. *Chronomus thummi*'nin aynı kromozom sayısına sahip iki alt türü arasında da % 27 lik bir DNA miktarı farkı gözlenmiştir (Keyl, 1966).

Aynı türe ait bireylerin farklı doku hücreleri arasında dahi DNA miktarı farklılıkları rapor edilmiştir. Hayvanlardan *Enchytraeidae* türlerinde bu durum gözlenmiştir (Christensen, 1966).

Diğer bazı bitki ve hayvan gruplarında DNA miktarının kromozom sayısından bağımsız olduğu açıklanmıştır. Bazı akraba Angiospermlerdeki (Sparrow and Miksche, 1961; Martin and Shanks, 1966; Rees et al., 1966; Jones and Rees, 1968) ve Gymnospermlerdeki (Miksche, 1967) DNA miktarı farklılıkları rapor edilmiştir.

Jones and Rees, (1968) *Allium* üzerine yaptıkları çalışmalardan sonra şu genellemelere varmıştır:

i-Kromozom sayısı ve DNA miktarı birbirinden bağımsız olabilmektedir.

ii-Temel kromozom sayısı DNA miktarı için güvenilir bir rehber değildir.

iii-Diploidler arasındaki DNA miktarı farklılıkları, poliploididen kaynaklanan miktar kadar büyük olabilmektedir.

*P. media* ototetraploidleri ve diploidlerinin DNA miktarı karşılaştırıldığında, kromozom sayısı diploidlerin iki katı olan ototetraploidlerin beklenen 1:2 oranında (9.05:18.10) DNA miktarı sergilemedikleri dikkati çekmektedir. Sonuç olarak; gözlenen değer olan 15.57 pg, ototetraploidlerin diploid atalarından 2.0 kat değil, 1.72 kat DNA miktarına sahip olduklarını göstermektedir.

Daha önce yapılan *P. media* Synaptonemal Kompleks çalışmalarından anlaşılmıştır ki, toplam haploid axial element uzunluğu diploidlerde ototetraploidlerden daha uzundur (Öner, 1993). Buna ek olarak, bu bitki üzerinde yapılan kiazma frekansı çalışmaları da göstermiştir ki, ototetraploidler diploidlere kıyasla 2.0 kat değil, 1.60 kat; kontrol grubu olarak kullanılan yapay tetraploidler de ototetraploidlerden 1.20 kat daha yüksek bir kiazma frekansı sergilemektedirler (Öner, 1993). Bu sonuçlar, bu tezde sunulan üç ploidi seviyesinin DNA miktarı sonuçlarına benzerlik arz etmektedir. Bu durum, *P. media'* da seleksiyon mekanizmasının kiazma ve DNA miktarlarında azalma yönünde işlediğini göstermektedir. Bu sonuçtan, DNA miktarı azaldığı için kiazma frekansı düşmüştür sonucuna varmak için eldeki bilgiler yeterli değildir. Ancak kiazma frekansının düşüklüğü, DNA da bir takım farklılaşma yollarına gidildiği anlamına gelmektedir.

Ototetraploidlerde ortalama DNA miktarı farklarına bakıldığında en düşük  $15.20 \pm 1.0$  pg (LA7-11A) ile en yüksek  $16.03 \pm 0.7$  pg (Hg) değerleri gözlenmiştir. Bu iki değer arasındaki fark 0.83 pg dir. Diploidler arasındaki 1.76 pg' lik bir farkın gözlemlenmesi ve ototetraploidlerde yedi bitki içerisinde yalnızca Hg kod numaralı bitki hücrelerinin, DNA miktarı olarak, diğer bitkilerin hücrelerine nisbeten düşük bir varyasyon arz etmesi, ototetraploidlerdeki varyasyonun diploidlere kıyasla daha düşük olduğunu göstermektedir.

Daha önce *P. media* da yapılan Synaptonemal Kompleks analizleri de diploidlerin ototetraploidlere göre daha fazla axial element uzunluğu varyasyonu gösterdiklerini ortaya koymuştur (Öner,1993). Benzer olayın DNA miktarları için de geçerli olması, tetraploid *P. media* ların ototetraploid orijinli olduklarına bir delil teşkil etmektedir ve bu durumda genomik varyasyon diploidlerde beklenen bir özelliktir. Çünkü, poliploid popülasyonlar tek poliploid bireyden meydana gelir ve diploid popülasyon içinde indirgenmemiş gametlerin ürünüdürler. Diploid bireyler ise, tek diploid bireylerden orijin almadıklarından, genomik olarak daha değişiklerdir.

*Betula papyrifera*'da da kromozom sayısı DNA miktarından bağımsızlık arz etmektedir. Bu türün 42 ve 84 kromozomlu bireyleri arasında teorik olarak beklenen 1:2 oranı yerine 1:1.58 oranı gözlemlenmiştir (Grant, 1969). Araştırmacı bunu poliploidinin yerleşebilmesi için gerekli bir adaptasyon olarak açıklamıştır.

Kontrol grubu olarak kullanılan yapay tetraploid *P. media*' ların DNA miktarı diploidlerin ve ototetraploidlerin DNA miktarı ile kıyaslanmıştır. Sonuç olarak, yapay tetraploidlerdeki 18.10 pg lik DNA miktarının kendilerinden teorik olarak beklenen 18.23 pg lik DNA miktarına çok yakın bir değer arz ettiği görülmüştür. ototetraploidlerde ise bu miktar 15.57 pg olarak bulunmuştur. Bu durum *P. media*' da ototetraploid bireylerde poliploidinin ilk ortaya çıkışından günümüze kadar bir DNA miktarı kaybının söz konusu olduğunu göstermektedir.

Yapay tetraploid *P. medialis*ın kendi içindeki DNA miktarı varyasyonu ototetraploidlerin varyasyonuna yakın bulunmuştur. Diploidlerde ise bu rakam nisbeten daha yüksektir. Bunun anlamı; ototetraploidlerin ilk ortaya çıkışından günümüze kadar kendi içlerinde bir DNA miktarı azalması meydana gelirken, bu azalmadaki varyasyon düşük tutulmuştur.

Araştırmada kullanılan tekniğin oldukça hassas olması itibarıyla, gözlenen değerlerdeki DNA miktarı farklılıklarının çok az bir ihtimal de olsa, belirli bir dereceye kadar teknik muameleden de kaynaklanabileceğini göz önünde bulundurmak gerekmektedir.

Ototetraploid- diploid DNA miktarı farkının yapay tetraploidlerinkine yakın çıkmaması Levin (1983) nin, ototetraploidlerin tutunabilmek amacıyla sitogenetik ve moleküler olarak bir değişiklik yoluna gitmeye meyilleri olduğu görüşünü desteklemektedir.

DNA miktarının yüksek çıkması, o DNA nın sekans spesifik genler taşıdığı anlamına gelmemektedir. Örneğin; *Drosophiladan* 100 kat daha fazla DNA sı olan bir *Salamanderde* DNA nın çoğu kodlama ve düzenleme ile görevli değildir. Stebbins (1964; 1966) DNA miktarının türün adaptif bir karakteristiği olduğu görüşündedir ve öldürücü olmayan mutasyonlarla DNA miktarının türler içinde ve arasında farklılık yaratabileceğini belirtmiştir.

DNA miktarı ile ilgili diğer sonuçlar da farklı araştırmacılar tarafından gelmiştir. Cavalier-Smith (1983) ve Ciccioli and Poggio (1993) DNA miktarı ile çekirdek hacmi arasında bir pozitif koreleasyon gözlemiştir. DNA miktarı ile mitotik (Hoff and Sporrow, 1963; Gall, 1981; Chooi, 1970) ve mayotik (Davies and Rees, 1975; Bennet and Smith, 1972; John and Miklos, 1988) bölünme süre uzunlukları negatif koreleasyonlar arz etmektedir. Buradan da anlaşılmaktadır ki, DNA miktarı metabolik basamakları etkilemektedir. Hücre gelişimi ve genom ölçüsü arasında da negatif bir koreleasyon olduğu ortaya konmuştur (Hoff and Sporrow, 1963; Bennet, 1971; 1973; Hof, 1975). DNA miktarı Buğdaya göre %33 daha fazla olan Çavdarın hücre gelişiminin daha yavaş olduğu (Bennet, 1973) ve bu iki bitkinin sadece DNA miktarında değil, içerdikleri heterokromatin miktarı açısından da DNA miktarıyla pozitif bir koreleasyon arz ettiği C-bandlama tekniklerinde gösterilmiştir (Sigh and Röbbelen, 1975; Bennet, 1971 ve 1973).

Çeşitli araştırmacılar Genomik DNA miktarlarının beklenen değerlerden farklı çıkmasını bazı sebeblere bağlamaktadırlar:

- i- Genetik farklılıkların mevcut olmasına (Ciccioli and Poggio, 1993),
- ii- Hücrelerin kendi çevresel faktörleriyle farklı ilişkiler içinde olmasına (Bennet , 1987).

iii- Bir kromozom re- aranjisini takiben, genlerde kendini ifade etme farklılıklarının meydana gelmesine (Ciccioli and Poggio, 1993) bağlamaktadırlar.

Yüksek bitkilerdeki DNA miktarı farklılıklarını açıklayabilecek bazı mekanizmalar ileri sürülmüştür. Bunların arasında dublikasyonlar (Wilson and Sparrow, 1960); differansiyel politeni (Rothfels and Heimberger, 1968); Kriptopoliploidi (Sparrow and Nauman, 1973); füzyon (Jones, 1974); saltatory replikasyon (Flavell et al., 1974) sayılabilir. Lewis (1980b) aynı ploidi düzeyindeki DNA farklılıkları söz konusu olduğunda dublikasyonun ya da delesyonun işin içinde olabileceğini ve bu durumda genomik değişimin hangi yöne doğru gideceğine dair bir kural olmadığını açıklamıştır.

Ferris and Whitt (1977) *Catostomid* ler üzerinde yaptıkları araştırmalarda, poliploidi vasıtasıyla DNA artışını takiben, fazla genlerde, bireyin adaptasyonunu sağlamak amacıyla, kendilerini ifade etme yönünde bir azalma yoluna gittikleri ve daha sonraki uzun periyotlarda ifade edilemeyen genlerin fiziksel olarak eliminasyonunun söz konusu olacağını ileri sürmüşlerdir. Bu post poliploid genomik değişime "Diploidizasyon" adı verilmektedir. Bu noktaya başka araştırmacılar da değinmektedir (Nel, 1969; Ohno, 1970; 1973). Ancak bu mekanizmanın tam olarak nasıl işlediği henüz bilinmemektedir.

## 4.2. Öneriler

Ototetraploid *P. media* nın başarı sağlamak amacıyla DNA miktarında meydana getirdiği azalmanın hangi mekanizma vasıtasıyla yerine getirildiği yolundaki sorulara daha kesin açıklamalar getirmek için ilerideki çalışmalarda iki ploidi seviyesinin; aminüasit sekans analizleri, C-kromozom bandlama teknikleri, ribozomal- kloroplast -mitokondri DNA kopye sayılarının karşılaştırmalı olarak ele alınması önerilmektedir.

Bitki ıslahı üzerine yapılan son araştırmalarda tetraploid formların verim ve kalite bakımından daha üstün ve ekonomik olduğu gözlenmiştir. Bu itibarla, ototetraploidlerden bitki ıslahında ve yetiştiriciliğinde gelecek için önemli sonuçlar alınabileceği söylenebilir.

**KAYNAKLAR**

- Ainsworth, C.C., Parker, J.S. and Horton, D.M., 1983, Chromosome variation and evolution in *Scilla autumnalis*., Kew Chromosome Conference II, Eds: Brandham, P.E. and Bennet, M.D., Bennet and Unwin, London.
- Albuzio, A., Spettoli, P. and Cacco, G., 1978, Changes in gene expression from diploid to autotetraploid status of *Lycopersicon esculentum*., *Physiol. Pl.*, 4, 77-80.
- Allendorf, F.W., 1978, Protein polymorfism and the rate of loss of duplicate gene expression., *Nature*, 272, 76-78.
- Barber, N.H., 1970, Hybridisation and the evolution plants., *Taxon*, 19, 154-160.
- Basset, I.J. and Crampton, C.W., 1968, Pollen morphology and chromosome numbers of the family *Plantaginaceae* in North America., *Canadian J. of Botany*, 46, 349-361.
- Beçak, W., Beçak, M.L., Lavallo, D. and Schreiber, G., 1967, further studies on polyploid amphibians (*Ceratophrydae*) II. DNA content and nuclear volume., *Chromosoma*, 23, 14-23.
- Bennet, M.D., 1971, The duration of meiosis., *Proc. Roy. Soc. Lond.*, 178, 277-299.
- Bennet, M.D., 1972, Nuclear DNA content and minimum generation time in herbaceous plants., *Proc. Roy. Soc., London (B)*, 181, 109-135.

- Bennet, M.D., 1973, Meiotic, gametophytic and early endosperm development. in *Triticale.*, IDRC, Ottawa, 137-148.
- Bennet, M.D., 1987, Variation in genomic form in plants and its ecological implications. , *New. Phytol.*, 106 (suppl.), 177-200.
- Bennet, M. D., Gustafson, J.P. and Smith, J.B., 1977, Variation in nuclear DNA in the genus *Secale.*, *Chromosoma*, 61, 149-176.
- Bennet, M.D. and Smith, J.B., 1972, The effects of ploidy on meiotic duration and pollen development in cereal anthers., *Proc. of the Royal soc.*, London, B181, 81-107.
- Cavalier-Smith, T., 1983, Cell volume and genome size., In: *Kew Chromosome Conference II.*, Eds: Brandham, P.E. and Bennet, M.D., Royal Botanical Gardens, Kew, London.
- Cavalier-Smith, T., 1985, The evolutionary significance of genome size., In: *The evolution of genome size.*, Ed: Cavalier-Smith, T., John Wiley and Sons Ltd.
- Chen, S.L. and Tang, P.S., 1945, Studies on colchicine-induced autotetraploid barley., *Amer. J. Bot.*, 32,177-181.
- Chooi, W.Y., 1970, Variation in nuclear DNA content in the genus *Vicia.*, *Genetics*, 68, 195-211.
- Chooi, W.Y., 1971, Variation in nuclear DNA content in the genus *Vicia.*, *Genetics*, 68, 195-211.
- Christensen, B., 1966, Cytophotometric studies on the DNA content in diploid and polyploid *Enchytraeidae (Oligochaeta).*, *Chromosoma (Berl.)*, 18, 305-315.

- Ciccioli, M.A. and Poggio, L., 1993, Genome size in *Calomys laucha* and *Calomys musculinus* (Rodentia, Cricetidae)., Genet. Sel. Evol., 25, 109-120.
- Davies, A.H. and Rees, H., 1975, Mitotic cycles in *Triticum* species., Heredity., 35, 337-345.
- Düzgüneş, O., 1975, İstatistik metodlar, Ank. Üniversitesi. Ziraat Fakültesi. Yayınları. 578, Ankara.
- Dvorak, J.A., Hall, T.E., Crane, M.S.J., Engel, J.C., Mc Daniel, J.P. and Uriegas, R., 1982, *Trypanosoma cruzi*: flow cytometric analysis, I. Analysis of total DNA/organism by means of mithramycin-induced florescence., J. Protozool., 29, 430-437.
- Engel, W., Schmidtke, J. and Wolf, U., 1975, Diploid- tetraploid relationships in teleostean fishes. In Isozymes, Vol. IV: Genetics and evolution, Ed., Markert, C.L., Academic Press, New york.
- Ferris, S.D. and Whitt, G.S., 1977a, Loss of duplicate gene expression after polyploidisation., Nature, 265, 258-260.
- Ferris, S.D. and Whitt, G.S., 1977b, Duplicate gene expression in diploid and tetraploid loaches (Cypriniformes, Cobitidae). Biochem. Genet., 15, 1097-1112.
- Feulgen, R., and Rossenberg, H., 1924, Mikroskopische-chemische nachweis einer nukleinsäure vom typus der thymonukleinsäure und die darauf beruhende elektive färbung von zellkernen in mikroskopischen präparaten., Zeits. Physiol. Chem., 135, 203-248.

- Flavell, R.B., Bennet, M.D., Smith, J.B. and Smith, D.B., 1974, Genome size and the proportion of repeated nucleotid sequence DNA in plants., *Biochem. Genet.*, 12,257-269.
- Gall, J.G., 1981, Chromosome structure and the C-value paradox., *The Journal of Cell Biology.*, 91, 3
- Goldblatt, P., 1980, Poliploidy in angiosperms: Monocotyledons. In *Polyploidy.*, Ed: Lewis, W.H., Plenum Press, New York and London.
- Gottschalk, W., 1978, Open problems in poliploidy research., *Nucleus*, 21(2), 99-112.
- Grant, V., 1963, *Plant speciation.*: Columbia University Press., New York and London.
- Grant, V., 1969, Decreased DNA content of Birch (*Betula*) chromosomes at high ploidy as determined by cytophotometry., *Chromosoma*, 26, 326-336.
- Grant, V., 1971, *Plant speciation.*, Columbia University Press, New york.
- Haldene, J.B.S., 1930, Theoretical genetics of autopoliploids., *Amer. J. Bot.*, 73, 1595-1606.
- Hoff, V. and Sparrow, A.H., 1963, A relationship between DNA content, nuclear volume and minumum mitotic cycle time., *Proc. Nat. Acad. sci.*, 49, 897.
- Hoff, V., 1975, The duration of DNA synthesis of the mitotic cycle and of meiosis in higher plants., In: *Handbook of Genetics*, 2, 363-377.

- Ingle, J., Timmis, J.N. and Sinclair, J., 1975, The relationship between satellite DNA, rRNA gene redundancy and genome size in plants., *Plant Physiol.*, 55, 496-501.
- Ingle, J. and Sinclair, J., 1972, Ribosomal RNA genes and plant development., *Nature.*, 235, 30-32.
- John, B. and Miklos, G., 1988, Stability and change in the genome. In: *The eukaryote genome in development and evolution.*, Allen and Unwin, London.
- Jones, R.N. and Rees, H., 1968, Nuclear DNA variation in *Allium*., *Heredity*, 23, 591-605.
- Jones, K., 1974, Chromosome evolution by Robertsonian translocation in *Gibasis (Commelinaceae)*., *Chromosoma*, 45, 353-368.
- Keyl, H.G., 1966, Increase of DNA in chromosomes., *Chromosomes today*, Eds: Darlington, C.D. and Lewis, K.R., New York.
- Kooy, R.F., Ashall, F., Ploeg, M., and Overdulue, J.P., 1989, On the DNA content of *Trypanosoma cruzi*., *Molecular and Biochemical Parasitology*, 36, 73-76.
- Leuchtenberger, C., 1958, Quantitative determination of DNA in cells by Feulgen microspectrophotometry., In: *General Cytochemical Methods I.*, Academic Press, New York.
- Levin, D.A., 1975, Minority cytotype exclusion in local plant populations., *Taxon*, 24 (1), 35-43
- Levin, D.A., 1983, Polyploidy and novelty in flowering plants.: *American Naturalist.*, 122, 1-25.

- Lewis, W. H., 1980a, polyploidy in Angiosperms.: Dicotyledons., In Polyploidy., Ed. Lewis, W.H., Plenum Press, New York and London.
- Lewis, W.H., 1980b, Polyploidy in species populations., In: Polyploidy., Ed: Lewis, W.H., Plenum press, New york and london.
- Löve, A. and Löve, D., 1957, Arctic polyploidy., Proc. Genet. Soc., Canada, 2, 23-27.,
- Löve, A. and Löve D., 1967, Polyploidy and altitude: Mt Washington., Biol. Zentral., 86 (suppl.), 307-312.
- Löve, A. and Löve D., 1975, *Cryophytes*, polyploidy and continental drift., Phytocoenologia, 2, 54-65.
- Martin, P.G. and Shanks, R. ,1966, Does *Vicia faba* have multistranded chromosomes?., Nature, 211, 650-651.
- Maul, G.G., 1977, The nuclear and cytoplasmic pore complex: Structure dynamics, distribution and evolution., Int. Rev. Cytol. Suppl., 6,75-186.
- McCullagh, D., 1934, Chromosome and chromosome morphology in *Plantaginaceae* L., Genetica, 16, 1-44.
- Micksche, J.P.,1967, Variation in DNA content of several Gymnosperms., Can. J. Genet. Cytol., 9, 717-722.
- Muller, H.J., 1914, A new mode of segregation for multiple alleles in alfalfa., Genetics, 101, 117-127.
- Nel, M., 1969, Gene duplication and nucleotide substitution in evolution., Am. Natur., 67, 5-19.

- Ohno, S., 1970, Evolution by gene duplication., Springer Verlag, Berlin, West Germany.
- Ohno, S., 1973, Evolutionary reason for having so much junk DNA., In: Modern aspects of cytogenetics: constitutive heterochromatin in man., Symposia Medica Hoechst, 6, 169-173.
- Öner, S.T., 1993, Chromosomal and molecular studies of the *Plantago media* polyploid complex., M. Phil. Thesis., University of London.
- Pilger, R., 1937, *Plantaginaceae*. , In Das Pflanzenreich. , Edited by Engler and Diels., Vol. IV ,269 ,(Herf). W. Engelman, Leipzig.
- Rahn, K., 1954, Experimental and cytological studies in *Plantago media*., Bot. Tidssk., 51, 300-307.
- Rahn, K., 1957, Chromosome numbers in *Plantago*., Bot. Tidssk., 53, 369-378.
- Rees, H., Cameron, F.M., Hazarika, M.H. and Jones, G.H., 1966, Nuclear variation between diploid angiosperms., Nature, 211, 828-830.
- Rees, H., Jones, R.N., 1972, The origin of wide species variation in nuclear DNA content., Int. Rev. Cytol., 32, 53-92.
- Riley, M., Aniliolis, A., 1978, Evolution of the bacterial genome., Ann. Rev. Microbiol., 32, 519-560.
- Roose, M.L. and Gottlieb, L.D., 1976, Genetic and biochemical consequences of polyploids in *Tragopogon*., Evolution, 30, 818-830.
- Rothfels, K. and Heinberger, M., 1968, Chromosome size and DNA values in sundews (*Droseraceae*)., Chromosoma (Berl.), 25, 96-103.

- Sagar, G.R. and Harper, J.L., 1964, Biological flora of British Isles., J. Ecol., 52, 189-221.
- Schultz, R.J., 1980, Role of polyploidy in the evolution of fishes., In: Polyploidy., Ed. Lewis, W.H., Plenum Press, New York and London.
- Sigh, R.J. and Röbbelen, G., 1975, Comparison of somatic Giemsa banding pattern in several species of rye., Z. Pflanzenzüchtg. 75, 270-285.
- Solbrig, O.T., 1980, Principles of demographic analysis applied to natural polyploid populations., In: Polyploidy., Ed: Lewis, W.H., Plenum Press., New York and London.
- Soltis, D.E. and Soltis, P.S. 1989a, Genetic consequences of autotetraploidy in *Tolmiea* (*Saxifragaceae*)., Evolution, 43(3), 586-594.
- Soltis, D.E. and Soltis, P.S., 1989b, Tetrasomic inheritance in *Heuchera micrantha* (*Saxifragaceae*)., J. Hered., 80,123-126.
- Sopova, M. and Rizova, M., 1975, Chromosome number and karyotype study in nine species of *Plantago*., Godisen Zbornik biol. Skoje Univer. Prirod. Fakul., 27(8), 237-251.
- Southern, D.I., 1967, species relationships in the genus *Tulipa* ., Chromosoma, 23, 80-94.
- Sparrow, A.H. and Nauman, A.F., 1973, Evolutionary changes in genome and chromosome sizes and in DNA content in the grasses., Brookhaven Symp. Biol., 25, 367-389.

- Sparrow, A.H. and Miksche, J.P., 1961, Correlation of nuclear volume and DNA content with higher plant tolerance to chronic radiation. *Science* 134, 282-283.
- Stebbins, G.L., 1947, Types of Polyploids: Their Classification and significance. *Adv. Genet.*, 1, 403-429.
- Stebbins, G.L., 1950, Variation and evolution in plants.: Columbia University Press., New York.
- Stebbins, G.L., 1964, Four basic questions of plant biology., *Am. J. Bot.*, 51, 220-230.
- Stebbins, G.L., 1966, Chromosome variation and evolution., *Science*, 152, 1463-1468.
- Stebbins, G.L., 1971, Chromosomal evolution in higher plants.: Columbia Univ. Press., New York.
- Stebbins, G.L., 1980, Polyploidy in Plants : Unsolved Problems and prospects., In: polyploidy. Ed: Lewis, W.H., Plenum Press, New York and London.
- Sugiura, T., 1939, Studies on the chromosome numbers in higher plants. IV., *Cytologia*, 10, 324-333.
- Tal, M., Imber, D., 1971, Abnormal stomatal behavior and hormonal imbalance in *flacca*, a wilted mutant of tomato. III. Hormonal effects on the water status in the plant., *Pl. Physiol.*, 47, 849-850.
- Tal, M., Imber, D., Erez, A. and Epstein, E., 1979, Abnormal stomatal behavior and hormonal imbalance in *flacca*, a wilted mutant of tomato. IV. Effect of abscisic acid on indoleacetic acid metabolism and ethylene evolution., *Pl. Physiol.*, 63, 1044- 1048.

- Tal, M., 1977, Physiology of Polyploid plants : DNA, RNA, protein and abscisic acid in autotetraploid and diploid tomato under low and high salinity., Bot. Gaz., 138. 119 -122.
- Tal, M., 1980, Physiology of polyploids., In: Polyploidy., Ed: Lewis, W.H., Plenum Press, New York and London.
- Tal, M. and Gardi, I., 1976, Physiology of polyploid plants: and high salinity., Physiol. Pl., 38, 257-261.
- Tomkins, D.J. and Grant, W.F., 1978, Morphological and genetic factors influencing the response of weed species to herbicides., Canad. J. Bot., 56,1466-1471.
- Uyeno, T. and Smith, G.R., 1972, Tetraploid origin of the karyotype of catostomid fishes., Science, 175, 644-646.
- Van Dijk, P., 1991, Evolutionary aspects of *Plantago media*.: Ph. D. Thesis. University of Groningen, Netherlands.
- Van Dijk, P. and Van Delden, W., 1990, Evidence for autopolyploidy in *Plantago media* and comparisons between natural and artificial cytotypes concerning cell size and fertility., Heredity, 65, 349-357.
- Wilson, G.B. and Sparrow, A.H., 1960, Configurations resulting from isochromatid and iso-subchromatid unions after meiotic and mitotic prophase irradiation., Chromosoma (Berl.), 11, 229-244.

## ÖZGEÇMİŞ

Sema Tülay ÖNER, 1963 yılında Merzifon' da doğdu. İlk öğrenimini Amasya' da yaptı. Ankara Gazi Lisesinden 1980 yılında mezun oldu. Aynı yıl, Gazi Üniversitesi, Gazi Eğitim Fakültesi, Biyoloji Eğitimi Anabilimdalında öğrenime başladı. Haziran 1984' de mezun oldu. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünün 1984' de açmış olduğu imtihanları kazanarak, Biyoloji Yüksek Lisans Programına başladı. Eylül 1985' de aynı Üniversiteye bağlı Gazi Eğitim Fakültesi, Biyoloji Eğitimi Anabilimdalın' da Araştırma Görevlisi olarak göreve başladı. Aralık 1986' da Yüksek Lisansı başarıyla bitirdi. 1987' de, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsünün açmış olduğu Biyoloji Doktora Programına başladı. Gazi üniversitesi tarafından 1988 yılında Londra Üniversitesi Queen Marry and Westfield College' da araştırmalar yapmak üzere görevlendirildi. Moleküler Biyoloji (DNA) ve Genetik (Elektron Mikroskop) çalışmaları yaptı. 1993 yılında Londra Üniversitesi, Q.M.W. College tarafından yaptığı çalışmaların neticesinde M. Phill. derecesi ile onurlandırılarak mezun olup, yurda döndü. 1994-1995 yılları arasında SEMEP (Güneydoğu Akdeniz Çevre Projesi) Türkiye Milli Koordinatörlüğünü yaptı. İleri derecede İngilizce bilen S. Tülay ÖNER halen Gazi Üniversitesi, Gazi Eğitim Fakültesi, Biyoloji Eğitimi Bölümünde Araştırma Görevlisidir.