

Türkiye'de Doğal Olarak Yetişen *Onobrychis* Seksiyonuna Ait Bazı Endemik Korunga
Türlerinin Karyolojik Özellikleri

Onur İleri

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Aralık 2014

Karyological Characteristics of Some Endemic Sainfoin Species Belonging to
Onobrychis Section Naturally Grown in Turkey

Onur İleri

MASTER OF SCIENCE THESIS

Department of Field Crops

December 2014

Türkiye'de Doğal Olarak Yetişen *Onobrychis* Seksiyonuna Ait Bazı Endemik Korunga
Türlerinin Karyolojik Özellikleri

Onur İleri

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Yönetmeliği Uyarınca
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Süleyman Avcı

Aralık 2014

ONAY

Tarla Bitkileri Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Onur İLERİ'nin YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı “Türkiye’de doğal olarak yetişen *Onobrychis* seksiyonuna ait bazı endemik korunga türlerinin karyolojik özellikleri” başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Süleyman Avcı

İkinci Danışman : -

Yüksek Lisans Tez Savunma Jürisi:

Üye : Prof. Dr. Ali KOÇ

Üye : Doç. Dr. Mehmet Demir KAYA

Üye : Doç. Dr. Murat OLGUN

Üye : Yrd. Doç. Dr. Süleyman AVCI

Üye : Yrd. Doç. Dr. Muhammet KAYA

<p>Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.</p> <p style="text-align: right;">Prof. Dr. Hürriyet ERŞAHAN Enstitü Müdürü</p>
--

ETİK BEYAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Yrd. Doç. Dr. Süleyman AVCI danışmanlığında hazırlamış olduğum “Türkiye’de Doğal Olarak Yetişen *Onobrychis* Seksiyonuna Ait Bazı Endemik Korunga Türlerinin Karyolojik Özellikleri” başlıklı YÜKSEK LİSANS tezimin özgün bir çalışma olduğunu; tez çalışmamın tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; tezimde verdiğim bilgileri, verileri akademik ve bilimsel etik ilke ve kurallara uygun olarak elde ettiğimi; tez çalışmamda yararlandığım eserlerin tümüne atıf yaptığımı ve kaynak gösterdiğimi ve bilgi, belge ve sonuçları bilimsel etik ilke ve kurallara göre sunduğumu beyan ederim. 25/12/2014

Onur İLERİ

İmza

ÖZET

Bu çalışmada, Türkiye’de doğal olarak yetişen *Onobrychis* cinsi *Onobrychis* seksiyonuna ait 7 endemik korunga (*O. beata*, *O. cilicica*, *O. fallax*, *O. pisidica*, *O. podperae*, *O. sulphurea* ve *O. lasistanica*) türü üzerinde ezme preparat yöntemi kullanılarak karyolojik çalışmalar yapılmıştır. Kök uçlarının boyanmasında, feulgen ve hematoxylin-iron boyaları kullanılmıştır. Gözlem yapılan türlerin bir tanesinde (*O. lasistanica*) ploidi seviyesi tetraploid ($2n=28$), diğerlerinde ise diploid ($2n=14$) olarak belirlenmiştir. Temel kromozom sayısı ise incelenen tüm türlerde $x=7$ olarak tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kromozomlar sentromer pozisyonlarına göre median’dan submedian’a kadar değişmiştir. Gözlem yapılan kromozom özelliklerinden elde edilen veriler hiyerarşik kümeleme analizi yapılarak türler arasındaki akrabalık ilişkileri belirlenmiştir. Bu analize göre türler 3 grup altında toplanmıştır. Birinci grupta *O. fallax*, *O. sulphurea*, *O. beata* ve *O. lasistanica* türleri, ikinci grupta sadece *O. cilicica* türü ve üçüncü grupta *O. pisidica* ve *O. podperae* türleri yer almıştır.

Anahtar Kelimeler: *Onobrychis*, kromozom, karyotip, ideogram

SUMMARY

In this study, karyological studies were performed with squash preparation method in seven different endemic *Onobrychis* species (*O. beata*, *O. cilicica*, *O. fallax*, *O. pisidica*, *O. podperae*, *O. sulphurea* ve *O. lasistanica*) belonging to *Onobrychis* section naturally grown in Turkey. Feulgen and hematoxylin-iron were used in the staining of the root tip. While ploidy level of *O. lasistanica* was tetraploid ($2n=28$), ploidy level of the other species were diploid ($2n=14$). Basic chromosome numbers of the investigated species were determined in $x=7$. However, chromosomes showed differences from median to submedian according to centromer position. Based on data obtained from chromosome characteristics, hierarchical grouping analysis was performed to determine the relationship among species. According to this analysis, *Onobrychis* species were grouped with three groups. In the first of these three groups consisted of *O. fallax*, *O. sulphurea*, *O. beata* and *O. lasistanica* and second group included only *O. cilicica* and third group included two *Onobrychis* species (*O. pisidica* and *O. podperae*).

Keywords: *Onobrychis*, chromosome, karyotype, ideogram

TEŞEKKÜR

Yüksek lisansım süresince ders ve tez çalışmalarımı ilgili her konuda bana gerekli bilgi ve imkanları sağlayarak yardımcı olan tez danışmanım ve değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Süleyman AVCI'ya teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmalarım sırasında her türlü bilgi ve desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dekanı Sayın Prof. Dr. Ali KOÇ ve Tarla Bitkileri Bölüm Başkanı Sayın Doç. Dr. Mehmet Demir KAYA'ya, zamanlarını ayırarak bana destek olan sevgili arkadaşlarım Arş. Gör. Engin Gökhan KULAN, İsmail ÖZAŞIK, Yasemin ABUŞ ve istatistik analizlerindeki yardımları için Öğr. Gör. Amir OROJPOUR MARAGHI ve Arş. Gör. Yasin ALTAY'a teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Komisyonu (Proje No: 201123029) tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	v
SUMMARY	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. ONOBRYCHIS CİNSİNİN GENEL ÖZELLİKLERİ VE KAYNAK	
ÖZETLERİ	4
2.1. <i>Onobrychis</i> Cinsinin Genel Özellikleri.....	4
2.1.1. <i>Onobrychis fallax</i> var. <i>longifolia</i> Aktoklu var. Nov. türünün morfolojik özellikleri ve yayılışı.....	5
2.1.2. <i>Onobrychis sulphurea</i> Boiss. Et Bal. var. <i>sulphurea</i> C. Koch Tıvzel türünün morfolojik özellikleri ve yayılışı.....	6
2.1.3. <i>Onobrychis cilicica</i> Kit Tan & Sorger türünün morfolojik özellikleri ve yayılışı.....	6
2.1.4. <i>Onobrychis pisidica</i> Boiss. türünün morfolojik özellikleri ve yayılışı.....	7
2.1.5. <i>Onobrychis beata</i> Sirj. türünün morfolojik özellikleri ve yayılışı.....	8
2.1.6. <i>Onobrychis podperae</i> Sirj. türünün morfolojik özellikleri ve yayılışı.....	9
2.1.7. <i>Onobrychis lasistanica</i> Sirj. türünün morfolojik özellikleri ve yayılışı.....	10
2.2. Kaynak Özetleri.....	11
3. MATERYAL VE METOT	16
3.1. Materyal.....	16
3.2. Metot.....	16

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

3.2.1. Tohumların çimlendirilmesi.....	16
3.2.2. İlk işlem.....	17
3.2.3. Tespit.....	17
3.2.4. Muhafaza.....	18
3.2.5. Hidroliz.....	18
3.2.6. Boyama.....	18
3.2.7. Preparatın hazırlanması.....	18
3.2.8. Preparatların devamlı hale getirilmesi.....	19
3.2.9. Kromozomların incelenmesi ve karyotip analizleri.....	19
3.2.9.1. Fotoğraf çekimi.....	19
3.2.9.2. Kromozom boylarının ölçülmesi.....	19
3.2.9.3. Kromozom kollarının indeksleri ve nispi boyları.....	20
3.2.9.4. Sentromer indekslerinin hesaplanması.....	20
3.2.9.5. İdeogramların oluşturulması.....	21
3.2.9.6. Karyogramların hazırlanması.....	21
3.2.9.7. Dendogram oluşturulması.....	21
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	22
4.1. Gözlem Yapılan Korunga Türlerinin Kromozom Özellikleri.....	22
4.1.1. <i>Onobrychis beata</i> türünün kromozom özellikleri.....	23
4.1.2. <i>Onobrychis cilicica</i> türünün kromozom özellikleri.....	26
4.1.3. <i>Onobrychis fallax var. longifolia</i> türünün kromozom özellikleri.....	28
4.1.4. <i>Onobrychis lasistanica</i> türünün kromozom özellikleri.....	31
4.1.5. <i>Onobrychis pisidica</i> türünün kromozom özellikleri.....	35
4.1.6. <i>Onobrychis podperae</i> türünün kromozom özellikleri.....	37
4.1.7. <i>Onobrychis sulphurea</i> türünün kromozom özellikleri.....	40
4.2. Gözlem Yapılan Korunga Türlerinin Dendogram Özellikleri.....	43
5. TARTIŞMA.....	44
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	49
7. KAYNAKLAR.....	52

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 <i>O.fallax</i> türünün genel görünüşü.....	5
2.2 <i>O.sulphurea</i> türünün genel görünüşü.....	6
2.3 <i>O.cilicica</i> türünün genel görünüşü.....	7
2.4 <i>O.pisidica</i> türünün genel görünüşü.....	8
2.5 <i>O.beata</i> türünün genel görünüşü.....	9
2.6 <i>O.podperae</i> türünün genel görünüşü.....	10
2.7 <i>O.lasistanica</i> türünün genel görünüşü.....	11
4.1 <i>O.beata</i> türünün a) hücre fotoğrafı, b) karyogramı ve c) ideogramı.....	25
4.2 <i>O.cilicica</i> türünün a) hücre fotoğrafı, b) karyogramı ve c) ideogramı...	27
4.3 <i>O.fallax</i> türünün a) hücre fotoğrafı, b) karyogramı ve c) ideogramı.....	30
4.4 <i>O.lasistanica</i> türünün a) hücre fotoğrafı, b) karyogramı ve c) ideogramı.....	33
4.5 <i>O.pisidica</i> türünün a) hücre fotoğrafı, b) karyogramı ve c) ideogramı...	36
4.6 <i>O.podperae</i> türünün a) hücre fotoğrafı, b) karyogramı ve c) ideogramı.	39
4.7 <i>O.sulphurea</i> türünün a) hücre fotoğrafı, b) karyogramı ve c) ideogramı	42
4.8 Karyotip özellikleri yönünden ele alınan 7 türe ait kümeleme analizi sonucu.....	43

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
3.1 Çalışmada kullanılan türlerin isim, lokasyon ve koordinat bilgileri...	16
3.2 Kromozom indekslerine göre belirlenen sentromerin yeri ve kromozom adlandırılması.....	20
4.1 <i>O.beata</i> türünün kromozom tipleri ve uzunlukları.....	24
4.2 <i>O.cilicica</i> türünün kromozom tipleri ve uzunlukları.....	28
4.3 <i>O.fallax</i> türünün kromozom tipleri ve uzunlukları.....	31
4.4 <i>O.lasistanica</i> türünün kromozom tipleri ve uzunlukları.....	34
4.5 <i>O.pisidica</i> türünün kromozom tipleri ve uzunlukları.....	37
4.6 <i>O.podperae</i> türünün kromozom tipleri ve uzunlukları.....	40
4.7 <i>O.sulphurea</i> türünün kromozom tipleri ve uzunlukları.....	41
6.1 İncelenen 7 korunga türüne ait somatik kromozom sayıları, kromozom özellikleri ve uygulanan boyama yöntemleri.....	50

SİMGELER VE KISALTMALAR**Simgeler**

°C

%

Açıklama

Santigrat derece

Yüzde

Kısaltmalar

a

cm

km

m

mm

sm

t

µm

Açıklama

Akrosentrik

Santimetre

Kilometre

Metre

Milimetre

Submetasentrik

Telosentrik

Mikrometre

1.GİRİŞ

İnsanoğlunun dengeli beslenmesinde hayvansal gıdalar özel bir yere sahiptir. Hayvansal ürünlerin hammaddesini ise kaba yemler oluşturmaktadır. Çayır ve mera alanları önemli kaba yem kaynağı olmakla birlikte günümüzde ihtiyaca cevap veremediği için tarım alanlarından kaba yem üretim amacıyla yem bitkileri yetiştiriciliğinin önemi giderek artmış ve mevcut durumda artmaya devam edecektir (Budak, 2013). Yine bozulan meraların ıslahında yem bitkileri tohumları kullanılarak yeniden bitkilendirme veya üstten tohumlama çalışmaları, günümüzün yaygın uygulamaları arasındadır. Bu nedenle yem bitkilerine olan ilgi her geçen gün artmaktadır. Yem bitkilerinde başarının sırrı yetiştirileceği yerin ekolojisine uygun türlerin ve bu türlere ait üstün verimli çeşitlerin geliştirilmesinde gizlidir.

Ülkemiz önemli bir hayvan varlığına sahip olmasına rağmen hayvan başına verimliliğin düşüklüğü nedeniyle zaman zaman iç talebi bile karşılamada yeterli olamamaktadır. Bu durumun en önemli nedeni hayvan beslemedeki yetersizlik olup bunun da ana nedeni kaliteli kaba yem açığıdır. Nitekim son yıllarda yapılan değerlendirmelerde ülkemizde 16 milyon ton (Koç et al., 2012) ile 20 milyon ton (İspirli vd., 2013) arasında kaba yem açığından bahsedilmektedir. Bu açığın kapatılmasında yem bitkileri ekim alanlarının artırılmasının yanı sıra, birim alandan verimin artırılması ve farklı ekolojilere uygun yeni çeşitlerin geliştirilmesine ihtiyaç vardır.

Korunga (*Onobrychis viciifolia* Scop. Syn., *Onobrychis sativa* Lam.) *Angiospermae* (kapalı tohumlular)'ın *Dicotyledonae* (iki çenekliler) sınıfı, *Rosales* takımının *Leguminosae* (baklagiller) familyasının *Papilionoidae* alt familyası içinde yer almaktadır (Yüksek vd., 2002). Kıraç koşullarda başarıyla yetiştirilebilen çok yıllık bir yem bitkisidir. Ayrıca tek yıllık türleri de olan korunga, biçilerek veya otlatılarak da değerlendirilebilen önemli bir yem bitkisidir. Ülkemizde nadas alanlarının daraltılması amacıyla başarıyla yetiştirilebileceği yapılan çalışmalar ile ortaya konulmuştur (Özdemir, 1993; Tosun et al., 1996). Korunga bitkisinin 8-20 yıl arası ömrü olduğu ifade edilse de ülkemizdeki ekonomik ömrü 5-6 yıl kadardır (Manga vd., 1995). Sulu ve

kuru koşullara göre değişmekle birlikte kuru ot verimi yılda ortalama 650-850 kg/da, tohum verimi 60-65 kg/da kadardır (Erkovan ve Tan, 2009). Otundaki ham yağ ve ham protein oranı yüksek olup ayrıca toprak isteği yönünden seğici olmayan, kireğli, taşlı, verimsiz ve su yetersizliği olan toprakların değerlendirilmesi açısından önemli bir yem bitkisidir. Derin kök yapısı ve azot bağlama özelliği sayesinde toprağı iyileştirici özelliği de bulunmaktadır (Ağıkgz, 2001; Altın vd., 2005; Avcı vd., 2010; Elęi, 2005; Serin ve Tan, 2001). Örneğin Rusya'da 2. Dünya Savaşı'nda bombalanmış olan alanların ıslahında korunga kullanılmıştır (Soya vd., 2004). Ancak korungada ęeřit sayısının azlığı ve özellikle mevcut ęeřitlerin korunga kök kurduna (*Bambaecia scopiger* ve *Sphenoptera carceli*) dayanıklı olmayışı nedeniyle korunganın ekonomik ömrü 3 yıla kadar inmiştir ve bu nedenle yeni ęeřit ıslahı yapılması öncelik olarak gzlmektedir (Bykburę vd., 1991).

Diğer kültür bitkilerinde olduğu gibi yem bitkileri ıslahında da yabancı bitkileri önemli bir yere sahiptir. Zira asırlar süren doğal seleksiyondan geçen bu bitkiler olumsuz ęevre şartlarına, biyotik ve abiyotik stres faktörlerine karşı daha dayanıklıdırlar. Yabancı korunga türleri; Akdeniz Bölgesi, Kafkasya ve Zagros Dağları hattı arasında yayılış göstermektedir. Dünyada Korunga (*Onobrychis*) cinsine ait yaklaşık 170, ülkemizde ise 55 tür bulunmaktadır ve bunların 28 tanesi endemiktir (Hedge, 1970; Aktoklu, 1995; Avcı et al., 2013).

Bu yabancı türler üzerinde yapılacak sitolojik ve sitotaksonomik ęalıřmalar, ıslah ęalıřmaları açısından büyük öneme sahiptir. Kromozom zelliklerine göre belirlenen filogenetik ilişkiler sonucu melezleme potansiyelinin belirlenmesi ve bu sayede yabancı türlerin istenen özelliklerinin kültür formlarına aktarılarak yeni ęeřitlerin geliştirilmesi mümkündür. Nitekim biręok kültür formuna yabancı formlardan gen aktarılması yoluyla, karşılaşılan sorunların üstesinden gelinebilmiştir (Elęi ve Sancak, 2009).

Sitolojik ęalıřmalarda bitkiler üzerinde uygulanan temel yöntemler mitoz bölünmenin metafaz evresi sırasında kromozom yapısını ve genellikle sayısını incelemeye dayanmaktadır. Kromozom sayısı ve satelitler üzerinde doğru gözlem yapıldığında elde edilen bulgular ıslah ęalıřmalarında oldukęa faydalı olmaktadır.

Sitolojik çalışmalarda karyotip (mitotik metafaz evresindeki kromozomların görünüşü) nemli bir yere sahiptir. Bir karyotipin ortaya çıkarılabilmesi için yapılacak gözlemlerle beş farklı karakterin karşılaştırılması gerekmektedir. Bu karakterler; kromozom büyüklükleri, sentromer pozisyonu, kromozomların nispi boyları, temel kromozom sayısı ve satelit pozisyonu ile sayısındaki farklılıklardan oluşmaktadır (Stebbins, 1971). Ayrıca kısa ve uzun kol oranlarının karşılaştırılması da genotipler arasındaki varyasyonların belirlenmesinde yardımcı olmaktadır (Plummer et al., 2003).

Bu alışmada; *Onobrychis* cinsi *Onobrychis* seksiyonunda bulunan 7 endemik korunga türünün (*Onobrychis pisidica* Boiss., *Onobrychis sulphurea* Boiss. & Bal. var. *sulphurea* C. Koch Tuzel, *Onobrychis fallax* Freyn & Sint. ex Freyn var. *longifolia* Aktoklu var. Nov., *Onobrychis podporea* Sirj., *Onobrychis cilicica* Kit Tan & Sorger, *Onobrychis beata* Sirj., *Onobrychis lasistanica* Sirj.) karyotip analizlerinin yapılması ve ideogramlarının oluşturulması planlanmıştır. Filogenetik açıdan türlerin birbirine olan yakınlıkları belirlenerek, tür üzerinde yapılacak olan ışlah çalışmalarına katkı sağlanmaya çalışılmıştır.

2. *ONOBRYCHIS* CİNSİNİN GENEL ÖZELLİKLERİ VE KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. *Onobrychis* Cinsinin Genel Özellikleri

Aktoklu'ya (1995) göre, *Onobrychis* cinsi, tek yıllık ya da çok yıllık otsu bitkilerden oluşmasına rağmen bazı dikenli çalı formları da mevcuttur. Alt kısımlarda odunlaşmış ya da kalınlaşmış yapıda olan gövde, tüylü veya tüsüz şekilde görülebilmektedir. Serbest veya bileşik yapıda görülebilen kulakçıklar genellikle zarsı yapıda olup kenarları da kirpiklidir. Yaprakçıklar tam kenarlı olup, şekli yuvarlak ile dikdörtgen arasındadır ve tepe kısmı sert bir uç ile sonlanır. Yaprakçıklar taban kısmında yaprak eksenine uzun bir sapla, üst kısımlarda ise kısa bir sapla bağlanır ve nadiren de sapsızdır. Çiçek durumu aksenel ve salkımsıdır. Çanak yaprak çan şeklinde, dişler birbirine eşit değildir ve genellikle mızraksı yapıdadır. Taç yapraklar sarı, pembe, beyaz, krem ya da leylak renkte olabilir ve aynı zamanda koyu renkli damarları vardır. Bayrakçık eliptik bir yapıya sahip ve bazen sırt kısmı tüylüdür. Kanatçıklar genelde çanak yapraktan kısa, kulakçıklı ve sapsızdır. Kayıkçık ise bayrakçıktan kısa veya eşittir. Yumurtalık 1-3 ovüllüdür. Erkek organlar diyadelf yapıdadır. Meyve yuvarlağa yakın şekildedir, kurduğunda açılmaz ve içinde 1-2 adet tohum bulundurur. Yumuşak tüylü veya tüsüzdür. Tohumlar ise böbreksi şekildedir.

Türkiye'de doğal olarak yetişen *Onobrychis* cinsi, *Onobrychis* ve *Sisyrosema* olmak üzere iki alt cinsten oluşur. Bu alt cinslerden *Onobrychis*; *Dendobrychis*, *Laphobrychis* ve *Onobrychis* olmak üzere 3 farklı seksiyona ayrılır (Aktoklu, 1995).

Onobrychis seksiyonu çok yıllık otsu türlerden oluşur. Bu türlerde genel olarak kanatçıklar kaliksten uzun veya kısa olabilmektedir. Ovaryumlar 1 ovüllüdür ve meyvenin belirgin bir sapı ile birleşim yeri bulunmamaktadır. Bu çalışmada ele alınan *Onobrychis* seksiyonuna ait türlerin morfolojik özellikleri ve yayılışı, Hedge (1970), Davis et al. (1988) ve Aktoklu (1995)'ya göre aşağıdaki şekilde özetlenmiştir.

2.1.1. *Onobrychis fallax* var. *longifolia* Aktoklu var. Nov. türünün morfolojik özellikleri ve yayılışı

Bitki çok yıllık ve otsu yapıdadır. Gövde dik, taban kısmında odunsu ve hafif tüylü, üst kısımlarda ise tüysüz, 25-40 cm boyundadır (Şekil 2.1). Tabandaki yapraklar 1-4 çift yaprakçıklı olup uzun saplı, üst kısımdaki yapraklar ise 4-6 çift yaprakçıklı ve kısa saplıdır. Çiçek durumu sık ve çok çiçeklidir. Meyve kenarları dişli, uçları kıvrık ve sivridir.

Ülkemizin endemik bitkilerinden olan bu tür, 1200 m yükseklikte yayılış göstermektedir. Temmuz ve Ağustos döneminde çiçek ve meyve oluşturur. Ülkemizde Malatya ili, Arguvan ilçesi sınırları içerisinde bulunmaktadır.



Şekil 2.1. *Onobrychis fallax* türünün genel görünüşü

2.1.2. *Onobrychis sulphurea* Boiss. Et Bal. var. *sulphurea* C. Koch Tızel türünün morfolojik özellikleri ve yayılışı

Çok yıllık ve otsu gövdesi 30-60 cm kadar yükselmektedir (Şekil 2.2). Yapraklar 6-10 çift yaprakçıklı ve tabandakiler uzun saplı, üsttekiler kısa saplıdır. Yaprakçıklar eliptik şekilli ve alt yüzleri tüysüzdür. Çiçek durumunun sapı yaprakların 1-2 katı kadardır. Çok yoğun ve bol çiçekli olan çiçek durumu, meyve döneminde hafifçe uzamaktadır. Meyve kenarları dikensi dişlidir.

Türkiye’de meşelik alanlarda ve 1400-1700 m yükseklikte görülebilen bu endemik tür, Nisan-Temmuz ayları arasında çiçeklenmektedir.



Şekil 2.2. *Onobrychis sulphurea* türünün genel görünüşü

2.1.3. *Onobrychis cilicica* Kit Tan & Sorger türünün morfolojik özellikleri ve yayılışı

Çok yıllık ve otsu yapıdadır. Gövdesi dik yapılı olup 25-30 cm boylanmaktadır (Şekil 2.3). Yapraklar 7-10 çift yaprakçıklı olup eliptik şekillidir. Çiçek durumu sapı

yaprakların 2 katı kadardır. Çiçek durumu eksensel, seyrek olup 20-28 çiçekten oluşmaktadır. Meyve hafifçe kıvrık ve kenarlarında yaklaşık 2 mm boyunda dişler bulunmaktadır.

Türkiye’de Anadolu’nun güney kesimlerinde görülebilen bu endemik tür, Temmuz-Ağustos aylarında çiçek açmaktadır. Kızılçam ormanları, gevşek topraklı yamaçlar ve bozkırlar dahil olmak üzere 300 ile 1300 m arası yükseklikte rastlanabilmektedir.



Şekil 2.3. *Onobrychis cilicica* türünün genel görünüşü

2.1.4. *Onobrychis pisidica* Boiss. türünün morfolojik özellikleri ve yayılışı

Çok yıllık olan bu tür, otsu yapıda ancak kalın bir toprak altı gövdeye sahiptir. Dik yapıda olan gövdesi 30-70 cm boylanabilmektedir (Şekil 2.4). Taban ve üstteki yapraklar, sayı ve büyüklük bakımından farklılık göstermektedir. Taban yapraklar 9-12 çift yaprakçıklı ve üstteki yapraklar 7-9 yaprakçıklıdır. Çiçek durumu sapı yapraklardan daha uzun olup 13-35 cm civarında ve çiçek sapı en çok 2 mm uzunlukta ancak meyve bağladığında 3 mm uzunlukta olmaktadır. Çiçek durumu sık ve çok çiçekli olup meyve döneminde uzamamaktadır. Meyvesi 2-4 mm boyunda dişlere sahiptir.

Türkiye’de en yoğun Isparta ili civarında görülebilen bu endemik tür, Mayıs-Haziran ayları içerisinde çiçek açmaktadır. Çamlık ve mera alanlarda, 300-1500 m yükseklikte yayılış göstermektedir.



Şekil 2.4. *Onobrychis pisidica* türünün genel görünüşü

2.1.5. *Onobrychis beata* Sirj. türünün morfolojik özellikleri ve yayılışı

Çok yıllık ve otsu yapıda olan tür kalın toprak altı gövdelidir ve dik gelişen gövdesi 30-40 cm boya ulaşmaktadır (Şekil 2.5). Taban yaprakları 5-8 çift yaprakçıklı, üstteki yapraklar 9-11 çift yaprakçıklıdır. Çiçek durumu sapı yaprakların 2-3 katı kadardır. Çiçek durumu sık ve bol çiçeklidir. Meyve genç dönemde kısa ve yoğun tüylü olup kenarları dişli şekilde gözükmektedir.

Haziran ve Temmuz aylarında çiçek açan bu endemik tür, daha çok Güney bölgelerde bulunmaktadır. Kalker kayalıklar ve alpin bozkırlardaki 1100-2500 m yükseklikte yayılış göstermektedir.



Şekil 2.5. *Onobrychis beata* türünün genel görünüşü

2.1.6. *Onobrychis podperae* Sirj. türünün morfolojik özellikleri ve yayılışı

Çok yıllık ve ince toprak altı gövdeye sahiptir. Dik yapıdaki gövdesi 20-60 cm kadar uzayabilir ve belirgin açık yeşil çizgilidir (Şekil 2.6). Taban yaprakları 5-10 çift ve üst yapraklar 3-9 çift yaprakçıklıdır. Çiçek durumu sapı yaprakların en çok 2 katı kadar uzayabilmektedir. Çiçek durumu seyrek, çok çiçekli ve meyve döneminde uzamaktadır. Meyve kenarlarındaki dişler disk üzerindeki dişlerden daha uzundur.

Kalker kayalıklı yamaçlar ve bozkırlardan oluşan 300-1300 m arası yüksekliklerde görülebilmektedir. Türkiye’de Kütahya, Nevşehir, Bilecik illerinde yayılış göstermektedir.



Şekil 2.6. *Onobrychis podperae* türünün genel görünüşü

2.1.7. *Onobrychis lasistanica* Sirj. türünün morfolojik özellikleri ve yayılışı

Çok yıllık, otsu ve rizomlu bir türdür. Odunsu gövde dik ve 30-50 cm boylarında gözükmektedir (Şekil 2.7). Yapraklar 11-14 çift yaprakçıklı ve çiçek topluluğu sapı yaprakların yaklaşık iki katı kadardır. Çiçek durumu seyrek ve meyve döneminde bir miktar uzama gösterir. Meyve kenarlarında her biri yaklaşık 1 mm uzunlukta olan 6-9 adet diş bulunmaktadır.

Bu endemik tür alpin, bozkır ve dağ meraları gibi 2100-2950 m yükseklik civarında yayılış gösterir ve Temmuz-Ağustos aylarında çiçek açmaktadır. Türkiye’de Kuzeydoğu Anadolu ve Karadeniz bölgelerinde görülmektedir.



Şekil 2.7. *Onobrychis lasistanica* türünün genel görünüşü

2.2 Kaynak Özetleri

Levan et al. (1964), yaptıkları karyotip analizlerinde, kromozomları sentromer pozisyonuna göre kodlayarak adlandırmışlardır. Buna göre sentromer durumu median bölgesi (m), submedian bölgesi (sm), subterminal bölgesi (st), terminal bölgesi (t) şeklindedir.

Hedge (1970), *Onobrychis* cinsine ait Türkiye’de 5 seksiyonda sınıflandırılan 46 adet farklı türün olduğunu belirtmiştir. Hedge’nin (1970) bu kaydından sonra yapılan çalışmalarda ülkemiz florasında yeni türler kaydedilmiştir. Nitekim Aktoklu (1995), yaptığı çalışmalar sonucu Türkiye’de 52 korunga türüne ait 60 takson bulunduğunu belirtmiştir ve bu türlerin ayırım anahtarlarını yeniden düzenlemiştir.

Gu et al. (1984), Sorgum bitkisi üzerinde yaptıkları bir çalışmaya göre, satalit boylarının toplam boy uzunluğuna eklenmesi gerektiğini ve hazırlanan ideogramlarda homolog kromozomlardan yalnızca birinin gösterilmesi gerektiğini belirtmişlerdir.

Abou-El-Enain (2002), *Lophobrychis* seksiyonundan 6 korunga türünün 6 populasyonu içerisinde 22 adet bireyin kromozom sayılarını incelemiştir. Temel kromozom sayılarını $x=7$ ve $x=8$ olarak tespit etmiştir. Kromozom boyları 1.6 μm ile 2.6 μm arasında ölçülmüştür. *Onobrychis bobrovii* Grossh. türünde $2n=4x=28$ ve *Onobrychis pulchella* Schrenk. türünde $2n=4x=32$ olmak üzere iki yeni ploidi seviyesi belirlemiştir.

Plummer et al. (2003), Karyotip analizi üzerine yaptığı çalışmada kromozomları eşleştirerek uzunluklarına göre büyükten küçüğe doğru sıralamış ve ideogramlarını da oluşturmuştur. Bu yöntemle tür içi ve türler arası kromozomlar arasında karşılaştırma yapılabileceğini belirtmiştir.

Zarifi (2004), Bazı korunga türleri üzerine yaptığı karyotip analizi çalışmasında aceto-iron hematoxylin boyama yöntemini kullanmış ve başarılı olmuştur.

Elena (2006), Beş korunga türü üzerinde sitolojik çalışmalar yapmıştır. Bu türlerin kromozom sayılarını, kromozom uzunluklarını ve ploidi seviyelerini belirleyerek karyotiplerini oluşturmuştur. Bu türler arasında hem diploid hem de tetraploid bireyler olduğunu belirlemiştir. Temel kromozom sayılarını *Onobrychis crista-galli* için $x=8$, diğerleri için $x=7$ olarak bulmuştur (*Onobrychis viciifolia*, *Onobrychis caput-galli*, *Onobrychis montana*, *Onobrychis transcaucasica*). Kromozom uzunlukları bakımından en uzun türü *O. viciifolia* ve en kısa türü *O. transcaucasica* olarak belirlemiştir.

Martin et al. (2008), Dört *Astragalus* türü üzerinde yaptığı çalışmada, ilk işlem için 4 °C'de α -monobromo naftalin içerisinde 16 saat süreyle, sonrasında tespit için Carnoys çözeltisi (3:1 oranında absöü alkol – glasiyal asetik asit karışımı) içerisinde 1 gece bekletmiştir. Hidroliz için 10 dakika boyunca 1 N HCl uygulamış ve % 2'lik aseto orsein ile 2 saat süreyle boyamıştır. Ezme preparat yapımında % 45'lik asetik asit kullanmıştır.

Öztürk et al. (2009), Farklı cinslerden (*Conringia*, *Alyssum*, *Matthiola*, *Erysimum*, *Silene*, *Linum*, *Medicago*, *Onobrychis*, *Astradaucus*, *Centaurea*, *Cnicus*, *Tragopogon*, *Paracaryum*, *Plantago*) 19 bitki taksonu üzerinde sitogenetik çalışma yapmışlardır. Tohumları petri kaplarında çimlendirdikten sonra ilk işlem için 4 °C'de α -monobromo naftalin ile 16 saat bekletme uygulamışlardır. Tespit için absolü alkol - glasiyal asetik asit çözeltisinde (3:1) 24 saat ve hidroliz için 1 N HCl içinde 13 dakika oda sıcaklığında bekletmişlerdir. Boyama yönteminde ise % 2'lik aseto orsein ile 2 saat bekletmenin en iyi sonuç verdiğini belirtmişlerdir.

Zarifi et al. (2009), *Artemisia* cinsine ait iki tür üzerinde çalışma yapmışlardır. İlk işlem için α -monobromo naftalin ve hidroksi kinolin kullanmışlardır. Tespit işleminde formaldehit ve kromik asit çözeltilerini kullanmışlar, hidrolizi 1 N NaOH ve 1 N HCl çözeltileriyle 60 °C'de 10 dakika olarak yapmışlardır. Boyama için hemtoxylin-iron çözeltisinde 30-32 °C'de 16 saat bekletmişlerdir.

Nazirzadeh vd. (2009), *Asteracea* familyasından *Artemisia* cinsine ait 2 tür üzerinde karyotip çalışması yapmışlardır. Türlerin kök uçlarına α -monobromo naftalin ve hidroksi kinolin ile ilk işlem uygulayıp formaldehit ve kromik asit çözeltilerinde tespit yapmışlardır. Sonrasında 1 N NaOH ve 1 N HCl ile 60 °C'de 10 dakika hidroliz işlemi uygulayarak asetik asit ve hematoxylin-iron ile boyama işlemini gerçekleştirmişlerdir. Bunun sonucunda *A. absinthium* türünün $2n=2x=18$ kromozom sayısına sahip ve diploid olduğunu, *A. fragrans* Willd. türünün de $2n=4x=36$ kromozom sayısına sahip ve tetraploid olduğunu belirlemişlerdir.

Hejazi et al. (2010), *Onobrychis* cinsinden 20 türe ait 45 farklı populasyon üzerinde karyolojik çalışmalar yapmışlardır. Tohumları 22 °C'de çimlendirerek % 0.5'lik α -monobromo naftalin çözeltisi ile 4 °C'de, 4 saat süre ile ilk işlem uygulamışlardır. Tespit işlemi için 1:1 oranında karıştırılmış % 10 formaldehit ve % 1 kromik asit çözeltisi ile oda sıcaklığında 16 saat bekletmişlerdir. Tespit sonrası yıkanan kök uçları 1 N NaOH ile 60 °C'de 7 dakika boyunca hidroliz edilmiştir. Boyamada hematoxylin-iron çözeltisi kullanılmış ve ezme preparatlar 10:1 oranında karıştırılmış olan % 45 asetik asit ve laktik asit çözeltisi ile yapılmıştır. Temel kromozom sayılarını

$x=7$ ve $x=8$ olarak tespit etmişlerdir. Temel kromozom sayısı $x=7$ olan grupta 6 adet diploid ($2n=14$) ve 22 adet tetraploid ($2n=28$) populasyon, $x=8$ olan grupta ise 17 adet diploid seviyesine sahip populasyon olduğunu belirlemişlerdir.

Kazem et al. (2010), *Astragalus* türleri üzerinde karyolojik çalışma yapmışlardır. İlk işlem α -monobromo naftalin çözeltisi ile yapılmış ve sonrasında Lewitsky çözeltisi (1:1 oranında karıştırılan % 10 formaldehit - % 1 kromik asit) ile tespit işlemi gerçekleştirilmiştir. 1 N NaOH ile hidroliz edilen kök uçları hematoxylin-iron çözeltisi ile boyanmış ve temel kromozom sayısı $x=8$ olarak belirlenmiştir.

Ranjbar et al. (2010), Yaptıkları çalışmada, *Onobrychis viciifolia*, *Onobrychis transcaucasica* Grossh. ve *Onobrychis altissima* Grossh. türlerine ait farklı yabani korunga populasyonlarının morfolojik karakterlerini, mayotik kromozom sayılarını ve davranışlarını belirlemişlerdir. *O. viciifolia* ve *O. altissima* populasyonlarında ploidi seviyesi tetraploid ($2n=4x=28$) iken, *O. transcaucasica* populasyonlarının tamamının diploid ($2n=2x=14$) ploidi seviyesine sahip olduğunu belirtmişlerdir. İncelenen bütün populasyonların temel kromozom sayıları $x=7$ olarak tespit edilmiştir.

Sepet et al. (2011), *Onobrychis caput-galli*, *Onobrychis aequidentata* d'Urv., *Onobrychis fallax* Freyn & Sint. var. *fallax*, *Onobrychis lasiostachya* Boiss., *Onobrychis viciifolia*, *Onobrychis oxyodonta* Boiss. subsp. *armena* (Boiss. & Huet) Aktoklu, *Onobrychis hypargyrea* Boiss. ve *Onobrychis cappadocica* Boiss. olmak üzere 8 adet korunga türü üzerinde karyolojik çalışma yapmışlardır. Kromozom sayılarını *O. cappadoica* için $2n=16$, *O. viciifolia* için $2n=28$ ve diğer türler için $2n=14$ olarak tespit etmişlerdir.

Akçelik et al. (2012), Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanmış olan 4 farklı yabani korunga türü (*Onobrychis tournefortii*, *Onobrychis gracilis* Besser, *Onobrychis hypargyrea*, *Onobrychis argyrea* Boiss. subsp. *argyrea* Boiss.) üzerinde karyolojik çalışmalar yapmışlardır. Çalışmada, feulgen ve hematoxylin-iron boya çözeltileri

kullanılmıştır. *O. argyrea* için kromozom sayısı $2n=16$, diğer türler için $2n=14$ olarak tespit edilmiştir.

Arslan et al. (2012), *Hedysareae* oymağına ait 6 *Onobrychis*, 2 *Hedysarum* ve 1 *Sartoria* türü üzerinde karyotip analizi yapmışlardır. Türlerin kromozom sayıları ve ploidi seviyeleri belirlenmiştir. İlk işlem için α -monobromo naftalin, tespit için etil alkol-glasiyal asetik asit (3:1), hidrolizde 1N HCl ve boyamada ise hematoxylin-iron çözeltileri kullanılmıştır. Kromozom sayılarını *O. altissima*, *O. oxyondata*, *O. hajastana*, *O. tournefortii* için $2n=14$, *O. subacailis*, *O. galegifolia*, *S. hedysaroides*, *H. syriacum* ve *H. pannosum* için $2n=16$ olarak bulmuşlardır.

Ghanavati et al. (2012), Beş *Onobrychis* türüne ait 13 farklı populasyon üzerinde karyotip analizi yapmışlardır. Temel kromozom sayısı $x=7$ ve $x=8$ olarak belirlenmiştir. Bazı türlerin farklı populasyonları arasında ploidi seviyelerinde farklılık olduğu tespit edilmiştir. Buna göre, *O. caput-galli* populasyonlarında 1 adet ($2n=2x=14$), *O. pulchella* populasyonlarında 1 adet ($2n=2x=16$), *Onobrychis aucheri* populasyonları arasında 2 adet ($2n=2x=16$ ve $2n=4x=32$) ve *O. crista-galli* populasyonları arasında 2 adet ($2n=2x=16$ ve $2n=4x=32$) olmak üzere farklı ploidi seviyeleri olduğu bildirilmiştir.

Abuş (2013), Türkiye’de doğal olarak yetişen ve *Onobrychis* cinsi *Hymenobrychis* seksiyonuna ait 2 tanesi endemik olmak üzere 6 türün (*O. tournefortii*, *O. galegifolia*, *Onobrychis radiata*, *O. hypargyrea*, *O. meschetica* ve *O. albiflora*) kromozom sayılarını ve morfolojilerini incelemiştir. Feulgen ve hematoxylin-iron olmak üzere 2 farklı boyama yöntemi kullanmıştır. İncelenen türlerin tamamında mitotik metafaz evresi kromozom sayılarını $2n=14$ ve temel kromozom sayılarını $x=7$ olarak bulmuştur.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu çalışma, 2006 – 2009 yılları arasında TÜBİTAK (Proje No:106 O 040) projesi kapsamında ülkemizin farklı bölgelerinden toplanan yabancı korunga taksonları üzerinde yürütülmüştür (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan türlerin isimleri, lokasyonları ve koordinat bilgileri

No	Tür ismi	Lokasyon	Enlem (K)	Boylam (D)	Yükseklik (m)
1	<i>O. fallax</i>	Malatya, Arguvan, Çobandere Köyü, Şotik Çayı Vadisi	39° 00' 02"	38° 12' 27"	1410
2	<i>O. sulphurea</i>	Kayseri, Hisarcık, Kıranardı meşe koruluğu	38° 37' 38"	35° 31' 39"	1514
3	<i>O. cilicica</i>	Mersin, Mut - Kıröbaşı arası	36° 41' 38"	33° 37' 27"	1095
4	<i>O. pisidica</i>	Isparta, Sarkıkağaç, Örenköy açık alanlar	38° 06' 04"	31° 13' 27"	1341
5	<i>O. beata</i>	Adana, Karaisalı, Koca Çukur Yaylası	37° 24' 23"	35° 02' 35"	1435
6	<i>O. podperae</i>	Kütahya, Gediz Açık alanlar	39° 02' 22"	29° 25' 42"	820
7	<i>O. lasistanica</i>	Trabzon, Köprübaşı, Kemer geçidi	40° 38' 00"	40° 01' 00"	2426

3.2. Metot

3.2.1. Tohumların çimlendirilmesi

Araştırma, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Çalışmada *Onobrychis* seksiyonuna ait 7 tür kullanılmış ve tüm türlerde kök ucu elde etmek için öncelikli olarak çimlendirme işlemi

yapılmıştır. Sert kabuk özelliğine sahip olan tohumların kabukları çizilerek su alım ve çimlenme işlemi kolaylaştırılmıştır. Tohumlar, petri kaplarında 20-22 °C arası sıcaklıkta çimlenmeye bırakılmış ve çimlenmeyi takiben 2-4 gün içerisinde kök uçları kromozom gözlemleri için uygun uzunluğa ulaşmıştır. Uzunluğu 1 cm'den kısa veya 2 cm'den büyük olan köklerde kromozom gözlemi yapılamamıştır. Ayrıca petri kaplarında ilk çimlenen tohumlar dışında, sonradan çimlenerek uygun uzunluğa ulaşan köklerde sonuç alınamadığı için tüm çalışma boyunca ilk çimlenen tohumların kök uçları kullanılmıştır. Bütün uygulamalar arasında kök uçları 10 dakika saf suyla yıkanmıştır.

3.2.2. İlk işlem

Kök uçlarında metafaz evresinde gözlem yapabilmek için, mitoz bölünme esnasında iğ iplikçiklerin oluşmasını engelleyerek kromozomların bir sonraki evreye geçişini durdurmak gerekmektedir. Bu işlemi yapabilmek için uygun uzunluktaki kök uçları kesilerek, eriyen buz, paradiklorobenzen, kolkisin, kumarin, 8-hidroksi quinolin veya α -monobromo naftalin gibi kimyasallarda muamele edilebilir (Elçi, 1982).

Bu çalışmada, ilk işlem için kök uçları 12 saat 4 °C'de eriyen buz içerisinde (Akçelik, 2009) ve 4 saat 4 °C'de % 0.5'lik α -monobromo naftalin çözeltisinde (Hejazi and Mahdi, 2010) bekletilmiştir.

3.2.3. Tespit

Kromozomların canlı haline en yakın şekilde gözlem yapılabilmesi amacıyla hücrelerin hızlı bir biçimde öldürülmesi gerekmektedir. Bu amaçla boyama tiplerine göre iki farklı tespit uygulaması yapılmıştır. Birinci tespit uygulamasında, feulgen boyaması için kök uçları etil alkol - asetik asit çözeltisi (3:1) ile 24 saat oda sıcaklığında muamele edilmiştir (Öztürk et al., 2009). İkinci tespit uygulamasında ise hematoxylin-iron boyaması için % 10'luk formaldehit ve % 1'lik kromik asit çözeltisi (1:1) içerisinde 16 saat süre ile bekletilmiştir. Tespit çözeltisinden çıkarılan kökler, bir sonraki işleme geçmeden önce 3 saat boyunca saf su ile yıkanmıştır (Hejazi and Mahdi, 2010).

3.2.4. Muhafaza

Tespitten çıkan köklere başka bir işlem yapmadan önce birkaç gün bekletmek için % 70'lik alkol içerisinde 4 °C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir. Ancak 1 günden daha uzun süre bekletilen köklerde istenen gözlemler yapılamamıştır.

3.2.5. Hidroliz

Dokuların ayrılarak, birbirinin üzerine gelmeden tek düzleme yayılabilmesi için hidroliz işlemine ihtiyaç duyulmaktadır. Hidroliz işlemi boyama yöntemine göre iki farklı şekilde yapılmıştır. Birinci uygulamada feulgen boyaması için 1 N HCl çözeltisi kullanılırken, ikinci uygulamada hematoxylin-iron boyaması için 1 N NaOH çözeltisi kullanılmıştır. Her iki işlemde de kök uçları 60° C'de su banyosu içerisinde türlere bağlı olarak 8-12 dakika süre ile bekletilmiştir.

3.2.6. Boyama

İki farklı boyama yöntemi kullanılmıştır. Hematoxylin-iron boyama yönteminde kök uçları boya çözeltisi içerisinde karanlık ortamda 3-4 saat süre ile bekletilmiştir (Ghanavati, 2012). Feulgen boyama yönteminde ise kök uçları 1 saat boyunca boya çözeltisiyle muamele edilmiştir. Hematoxylin-iron boyası içerisinde bekleme süresi 4 saatten fazla olduğunda kök uçlarında fazlaca sertleşme görülmüş ve buna bağlı olarak net görüntü elde edilememiştir.

Boyadan çıkan köklerde sertleşme görüldüğünden ayrıca yumuşatma işlemi uygulanmıştır. Bu amaçla selüloz enzimi (Cellulase onozuka RS) içinde kök uçları 2-5 dakika arasında oda sıcaklığında bekletilmiştir.

3.2.7. Preparat hazırlanması

Boyanan köklerin ucunda bulunan büyüme meristemi kısmından 1-2 mm uzunlukta bir parça jilette kesilerek lam üzerine alınmıştır. Yine jilet yardımıyla küçük

parçalar haline getirilen kök ucu üzerine, % 45'lik asetik asit ile laktik asit (10:1) karıştırılarak hazırlanan çözeltiden 1 damla damlatılarak lamel kapatılmıştır. Artan çözelti kurutma kağıdı yardımı ile alınmış ve lamel üzerine kurşun kalemin tersi ile hafifçe vurularak kromozomların tek düzleme yayılmaları sağlanmıştır (Elçi, 1982).

3.2.8. Preparatların devamlı hale getirilmesi

Karyotip analizi yapılabilecek görüntüleri veren preparatlar, daha sonra aynı şekilde incelenebilmesi amacıyla devamlı preparat haline getirilmiştir. Görüntüleri alınan preparatlar, içleri kurutma kağıdıyla kaplanıp 3-5 ml absöü alkol konulan şale kaplarına yerleştirilerek 4 °C sıcaklıkta 24 saat bekletilmiştir. Bu işlem lam ile lamel arasına, buharlaşan alkolün hava ile yer değiştirerek dolmasına imkan vermektedir. 24 saat sonunda şale kabından çıkarılan preparatlar, lamelin 3 kenarına kanada balsamı sürülerek ve içleri yine absöü alkol ile ıslatılmış şekilde kurutma kağıdı kaplanan petrilere konularak düz bir zeminde beklemeye bırakılmıştır. Önceden lam ile lamel arasına dolan absöü alkol bu kez kanada balsamı ile yer değiştirerek preparatın devamlı hale gelmesi sağlanmıştır (Elçi, 1982).

3.2.9. Kromozomların incelenmesi ve karyotip analizleri

3.2.9.1. Fotoğraf çekimi

Tek düzleme yayılmış ve üst üste gelmemiş halde bulunan, sentromer boşlukları net bir şekilde seçilebilen kromozomlar üzerinde fotoğraf çekimi yapılmıştır. Çekimlerde Zeiss Axio Scope.A1 marka mikroskoba entegre edilmiş olan Canon EOS 2000 model kamera kullanılmıştır.

3.2.9.2. Kromozom boylarının ölçülmesi

Kromozom boyları ölçülürken kısa kol, uzun kol ve varsa satalit boyu ölçülerek bu uzunlukların toplamı, toplam boy uzunluğu olarak alınmıştır. Toplam boy hesaplanırken sentromer ve satalit boşlukları dahil edilmemiştir. Bu ölçümler Zeiss

marka mikroskoba entegre edilmiş olan Zeiss Axio Vision yazılımı yardımıyla yapılmıştır.

3.2.9.3. Kromozom kollarının indeksleri ve nispi boyları

Kromozom kollarının indeksleri sentromer yerini belirlemede kullanılmakta ve buna göre kromozom adlandırılması yapılmaktadır. Bu hesaplama uzun kol uzunluğunun kısa kol uzunluğuna bölünmesi ile yapılmaktadır (Levan et al., 1964). Bu yöntemle belirlenen kol oranları, sentromerin yerleri ve kromozom sembolleri çizelge 3.2.'de verilmiştir. Kromozom boy indeksleri ve nispi boyları, homolog kromozomları belirlemede kullanılmıştır. Bu amaçla her tür için 5 adet resim çekilmiştir. Tüm kromozomların boy uzunlukları toplanıp her kromozoma bireysel olarak oranlandığında elde edilen nispi boy ve indeks değerleri sayesinde homolog olan kromozom çiftleri belirlenmiştir. Beş resimden toplam 5 çiftin yani 10 kromozomun ortalaması alınarak homolog kromozomlar uzundan kısaya doğru numaralandırılmıştır.

Çizelge 3.2. Kromozom indekslerine göre belirlenen sentromerin yeri ve kromozom adlandırılması

Kol Oranı (r)	Sentromerin Yeri	Kromozom Adı	Kromozom Sembolü
1.0-1.7	Ortada	Metasentrik	m
1.7-3.0	Orta ve son arasında	Submetsentrik	sm
3.0-7.0	Uca yakın	Akrosentrik	a
7.0-<	Uçta	Telosentrik	t

3.2.9.4. Sentromer indekslerinin hesaplanması

Bir hücre içindeki kromozomları en sağlıklı şekilde eşleştirebilmek ve yapılan ölçümlerin güvenilirliğini artırmak amacıyla kromozomlar üzerinde sentromer indeksi hesaplaması yapılmıştır. Sentromer indeksi, kısa kol boyunun toplam kromozom uzunluğuna bölünüp 100 ile çarpılmasıyla elde edilmiştir (Hejazi and Mahdi, 2010).

3.2.9.5. İdeogramların oluşturulması

Rakamların ya da belirli bir metnin grafik olarak gösterilmesine ideogram denir. Tüm ölçümleri tamamlandıktan sonra kromozomlar büyükten küçüğe doğru sırayla dizilmiştir. Microsoft Excel programı yardımıyla ve elde edilen uzunluk ölçümlerine göre kromozomların kısa kolları eksen yukarısına ve uzun kolları eksen aşağısına gelecek şekilde ideogramları oluşturulmuştur.

3.2.9.6. Karyogramların hazırlanması

Karyogram sayesinde bireylerin kendi genomu içindeki başka bir bireyin ya da başka bireylere ait kromozomlarının karşılaştırılması, yapısal farklılıklarının ve aralarındaki ilişkilerin belirlenmesi mümkün olabilmektedir (Elçi, 1982). Her tür için en iyi olarak değerlendirilen fotoğraflar üzerinde homolog olduğu belirlenen kromozomlar bir araya getirilip büyükten küçüğe doğru dizilerek karyogramlar oluşturulmuştur. Bu işlem için Adobe Photoshop CS2 programı kullanılmıştır.

3.2.9.7. Dendogram oluşturulması

R programı kullanılarak hiyerarşik kümeleme analizi yapılmış ve dendogram oluşturulmuştur. Analizde, her bir tür için 1 numaralı kromozoma ait uzun kol, kısa kol, toplam boy, uzun kol/kısa kol oranı, sentromerik indeks ve nispi boy olmak üzere 6 özellik dikkate alınmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu tez çalışmasında, *Onobrychis* cinsi *Onobrychis* seksiyonuna ait 7 yabancı korunga türü üzerinde karyolojik çalışmalar yürütülmüştür. Kromozom çalışmaları sırasında materyal sağlamak için çimlendirilen ilk tohumlardan kök ucu temin edilmesi yapılan çalışmada başarıyı arttırmıştır. Daha sonra çimlenen tohumlardan yapılan preparatlarda mitotik metafaz evresinin yakalanması oldukça güç olmuştur. Ayrıca, tespit işlemi sonrası kök uçlarının 24 saatten fazla muhafaza için alkol içerisinde bekletilmesi boyama ve görüntü kalitesini olumsuz yönde etkilemiştir. Boyama işlemi için kullanılan hematoxylin-iron boyasının kullanılmadan önce filtre kağıdı yardımıyla çok iyi süzülmesi ve 1 hafta sonra kullanılmaya başlanması boyama oranını arttırmıştır. Ancak, bu boya 45 günden sonra boyama özelliğini yitirmiştir. Bu çalışmada kullanılan türler farklı olduğu için her birinde hidroliz süresi değişmiştir. İyi boyamanın yapılabilmesi için bu hidroliz sürelerinin optimize edilmesi gerekir. Optimum hidroliz süresinin dışında boyamanın iyi olmadığı gözlenmiştir. Korungada boyamanın da etkisiyle hücre çeperi çok sert olduğu için preparat yapmadan önce hücre çeperini yumuşatacak enzimlere gerek duyulmaktadır. Bu çalışmada selülaz enzimi türlere göre değişen farklı sürelerde kullanılmıştır. Bu tür enzimlerin kullanılmadığı durumlarda ezme preparat yapımı zorlaşmakta ve mikroskop altında görüntü alınamamaktadır. Kromozom gözlemleri için kök uçlarına uygulanan her işlem arasında saf su ile iyi bir yıkama ve durulamanın yapılması boyama oranında önemli bir artış sağlamıştır.

4.1. Gözlem Yapılan Korunga Türlerinin Kromozom Özellikleri

Türlerin metafaz evresindeki kromozomlarının görüntüleri elde edilerek, bu görüntüler üzerinde yapılan uzun kol, kısa kol, toplam boy ve mevcut ise satalit boyu ölçümleri yardımıyla kol oranı, sentromer indeksi ve nispi boy oranı değerleri hesaplanmıştır. Bu 6 (satalit mevcut ise 7) parametre sayesinde, homolog kromozomlar belirlenerek en uzun olandan en kısa olana doğru sıralanmıştır. Sayısal veriler ile hazırlanan ideogramlar üzerinden kromozomların sırası belirlenerek, bu sıraya göre karyogramlar hazırlanmıştır ve bu sayede her taksonun kromozom özellikleri ortaya

koyulmuştur. Aşağıda sırasıyla incelenen türlerin kromozom özellikleri, çizelgeler ve şekiller halinde verilmiştir.

4.1.1. *Onobrychis beata* türünün kromozom özellikleri

Bu türde kromozom özelliklerini belirlemek için hematoxylin-iron boyama yöntemi uygulanmıştır. Türün kromozom sayısı $2n=14$ ($x=7$) olarak bulunmuştur ve kromozomlara ait elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

Kromozom özellikleri: Tüm kromozomlar median bölge olarak gözlenmiştir. Türün hücre fotoğrafı, karyotipi ve ideogramı Şekil 4.1.'de verilmiştir.

Kromozom I: Kromozomun toplam boyu $3.73 \mu\text{m}$ ile türün en uzun kromozomudur. Uzun kol boyu $2.13 \mu\text{m}$, kısa kol boyu $1.60 \mu\text{m}$, kol oranı 1.33, sentromer indeksi % 42.90 ve nispi boyu % 17.37'dir.

Kromozom II: Kromozomun toplam boyu $3.39 \mu\text{m}$ olarak ölçülmüştür. Uzun kol boyu $2.02 \mu\text{m}$, kısa kol boyu $1.37 \mu\text{m}$, kol oranı 1.47, sentromer indeksi % 40.41 ve nispi boyu %15.79'dur.

Kromozom III: Toplam boy $3.15 \mu\text{m}$ 'dir. Uzun kol boyu $1.82 \mu\text{m}$, kısa kol boyu $1.33 \mu\text{m}$, kol oranı 1.37, sentromer indeksi % 42.22 ve nispi boyu % 14.67'dir.

Kromozom IV: Toplam boy uzunluğu $3.03 \mu\text{m}$ 'dir. Uzun kol boyu $1.81 \mu\text{m}$, kısa kol boyu $1.22 \mu\text{m}$, kol oranı 1.48, sentromer indeksi % 40.26, nispi boyu % 14.11 olarak gözlenmiştir.

Kromozom V: Toplam boy uzunluğu $2.87 \mu\text{m}$ 'dir. Uzun kol boyu $1.67 \mu\text{m}$, kısa kol boyu $1.20 \mu\text{m}$, kol oranı 1.39, sentromer indeksi % 41.81, nispi boyu % 13.37'dir.

Kromozom VI: Toplam boy uzunluğu $2.68 \mu\text{m}$ 'dir. Uzun kol boyu $1.50 \mu\text{m}$, kısa kol boyu $1.18 \mu\text{m}$, kol oranı 1.27, sentromer indeksi % 44.03 ve nispi boyu % 12.48'dir.

Kromozom VII: Toplam uzunluk 2.62 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol boyu 1.45 μm , kısa kol boyu 1.17 μm , kol oranı 1.24, sentromer indeksi % 44.66, nispi boyu % 12.20'dir.

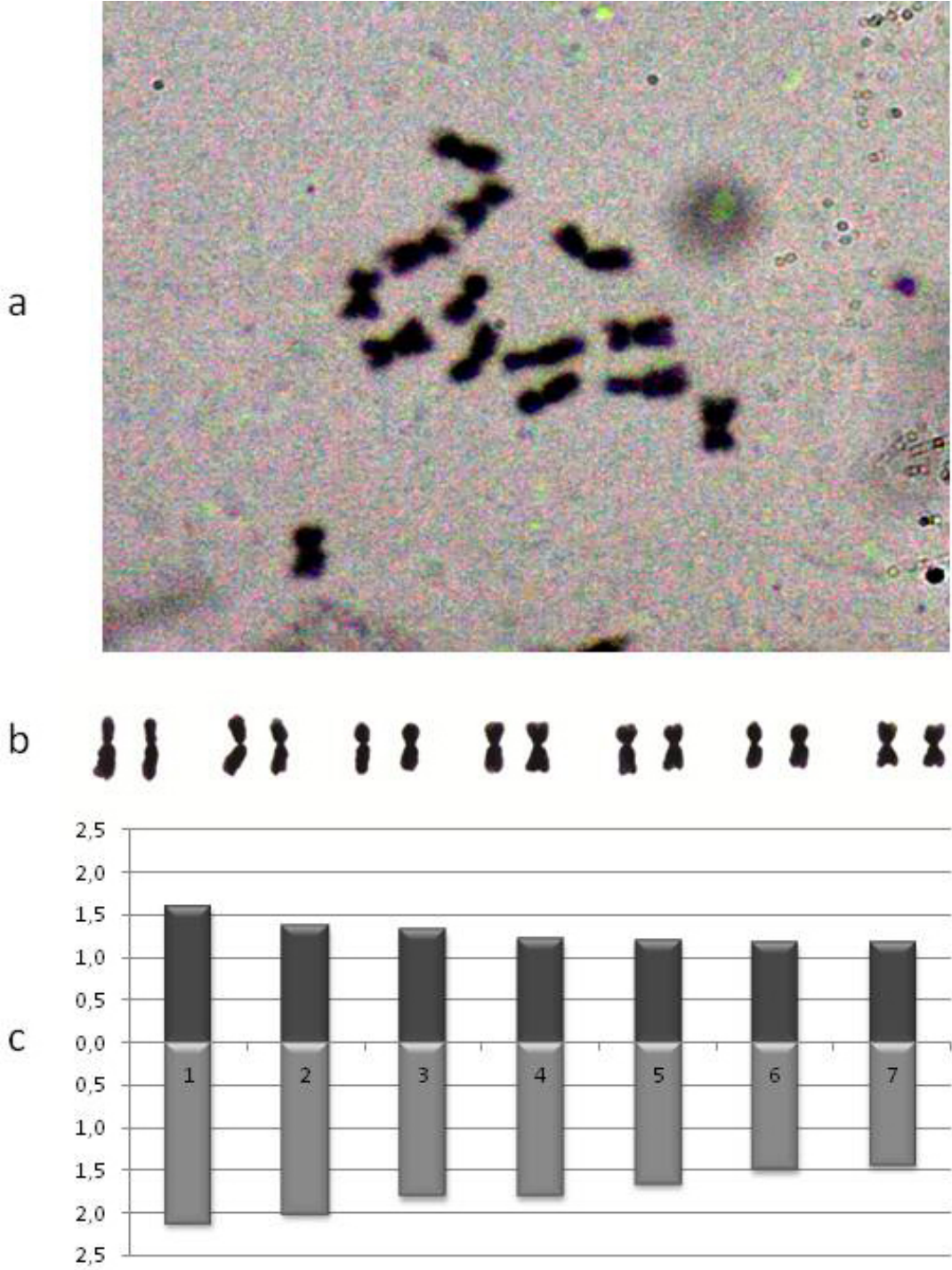
Onobrychis beata türünün karyotip analizi için yapılan ölçümler Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. *Onobrychis beata* türünün kromozom tipleri ve uzunlukları

K. No	Kromozom kolları (μm)		Toplam uzunluk (μm)	Satelit	Kol oranı (U/K)	Nispi boy (%)	Sentromerik indeks	Sentromer pozisyonu
	Uzun kol (U)	Kısa kol (K)						
I	2,13±0,39	1,60±0,09	3,73±0,41	-	1,33±0,23	17,37±0,95	42,90±3,85	m
II	2,02±0,14	1,37±0,20	3,39±0,22	-	1,47±0,26	15,79±0,51	40,41±4,13	m
III	1,82±0,15	1,33±0,20	3,15±0,17	-	1,37±0,35	14,67±0,31	42,22±5,14	m
IV	1,81±0,11	1,22±0,09	3,03±0,15	-	1,48±0,14	14,11±0,25	40,26±2,33	m
V	1,67±0,10	1,20±0,08	2,87±0,14	-	1,39±0,11	13,37±0,25	41,81±1,88	m
VI	1,50±0,09	1,18±0,10	2,68±0,05	-	1,27±0,18	12,48±0,13	44,03±3,51	m
VII	1,45±0,08	1,17±0,08	2,62±0,09	-	1,24±0,13	12,20±0,23	44,66±2,59	m

Haploid kromozom uzunluğu: 21,47 μm

Rakamlar ortalama=standart sapma olarak verilmiştir.



Şekil 4.1. *Onobrychis beata* türünün karyotip analizi ve ideogramı a) hücre fotoğrafı b) karyogram c) ideogram

4.1.2. *Onobrychis cilicica* türünün kromozom özellikleri

Bu türde kromozom özelliklerini belirlemek için hematoxylin-iron boyama yöntemi uygulanmıştır. Türün kromozom sayısı $2n=14$ ($x=7$) olarak bulunmuştur ve kromozomlara ait elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

Kromozom özellikleri: I, II ve IV. kromozomlar submedian, diğerleri median bölge olarak gözlenmiştir. I numaralı kromozomda satalit bulunmaktadır. Türe ait hücre fotoğrafı, karyogram ve ideogram şekil 4.2’de verilmiştir.

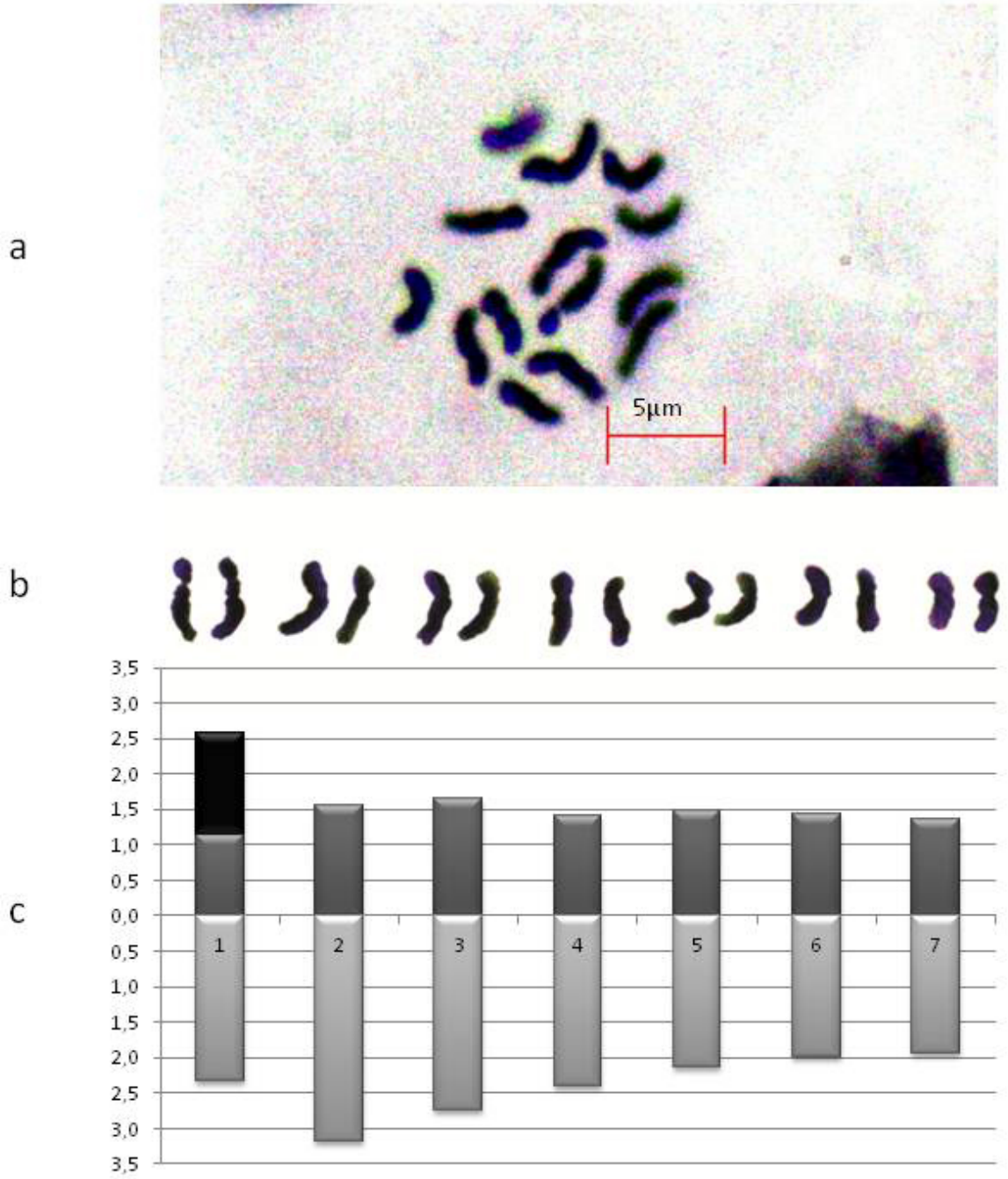
Kromozom I: Submedian sentromerli olarak gözlemlenen kromozomun boyu $4.92 \mu\text{m}$ olarak ölçülmüştür. Türün en uzun kromozomudur. Kromozom $1.44 \mu\text{m}$ uzunluğunda satalite sahiptir. Uzun kol $2.33 \mu\text{m}$, kısa kol $1.15 \mu\text{m}$, kol oranı 2.03, sentromer indeksi % 23.37, nispi boyu % 17.44’tür.

Kromozom II: Submedian sentromerlidir. Kromozomun boyu $4.74 \mu\text{m}$ olarak ölçülmüştür. Uzun kol $3.19 \mu\text{m}$, kısa kol $1.55 \mu\text{m}$, kol oranı 2.06, sentromer indeksi % 32.70, nispi boyu % 16.80’dır.

Kromozom III: Median sentromerli olan kromozomun boyu $4.39 \mu\text{m}$ olarak ölçülmüştür. Uzun kol $2.74 \mu\text{m}$, kısa kol $1.65 \mu\text{m}$, kol oranı 1.66, sentromer indeksi % 37.59, nispi boyu % 15.56’dır.

Kromozom IV: Submedian sentromerli olan kromozomun boyu $3.80 \mu\text{m}$ olarak ölçülmüştür. Uzun kol $2.40 \mu\text{m}$, kısa kol $1.40 \mu\text{m}$, kol oranı 1.71, sentromer indeksi % 36.84, nispi boyu % 13.47’dır.

Kromozom V: Median sentromerlidir. Boyu $3.62 \mu\text{m}$ olarak ölçülmüştür. Uzun kol $2.13 \mu\text{m}$, kısa kol $1.49 \mu\text{m}$, kol oranı 1.43, sentromer indeksi % 41.16, nispi boyu % 12.83’tür.



Şekil 4.2. *Onobrychis cilicica* türünün karyotip analizi ve ideogramı a) hücre fotoğrafı b) karyogram c) ideogram

Kromozom VI: Median sentromerlidir. Toplam boyu 3.43 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 2.00 μm , kısa kol 1.43 μm , kol oranı 1.40, sentromer indeksi % 41.69, nispi boyu % 12.16'dır.

Kromozom VII: Median sentromerlidir. Boyu 3.31 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 1.94 μm , kısa kol 1.37 μm , kol oranı 1.42, sentromer indeksi % 41.39, nispi boyu % 11.73'tür.

Onobrychis cilicica türünün karyotip analizi için yapılan ölçümler Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. *Onobrychis cilicica* türünün kromozom tipleri ve uzunlukları

K. No	Kromozom kolları (μm)		Toplam uzunluk (μm)	Satelit	Kol oranı (U/K)	Nispi boy (%)	Sentromerik indeks	Sentromer pozisyonu
	Uzun kol (U)	Kısa kol (K)						
I	2,33±0,32	1,15±0,25	4,92±0,56	1,44±0,18	2,03±0,31	17,44±0,49	23,37±2,50	sm
II	3,19±0,64	1,55±0,31	4,74±0,47	-	2,06±1,08	16,80±0,38	32,70±7,57	sm
III	2,74±0,27	1,65±0,30	4,39±0,37	-	1,66±0,36	15,56±0,31	37,59±5,25	m
IV	2,40±0,20	1,40±0,30	3,80±0,41	-	1,71±0,34	13,47±0,10	36,84±4,72	sm
V	2,13±0,22	1,49±0,22	3,62±0,38	-	1,43±0,19	12,83±0,15	41,16±3,28	m
VI	2,00±0,36	1,43±0,18	3,43±0,48	-	1,40±0,23	12,16±0,46	41,69±3,96	m
VII	1,94±0,29	1,37±0,19	3,31±0,47	-	1,42±0,05	11,73±0,43	41,39±0,93	m

Haploid kromozom uzunluğu: 28,21 μm

Rakamlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

4.1.3. *Onobrychis fallax var. longifolia* türünün kromozom özellikleri

Bu türde kromozom özelliklerini belirlemek için hematoxylin-iron boyama yöntemi uygulanmıştır. Türün kromozom sayısı $2n=14$ ($x=7$) olarak bulunmuştur ve kromozomlara ait elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

Kromozom özellikleri: Tüm kromozomlar median bölgesi olarak gözlenmiştir. Türe ait hücre fotoğrafı, karyogram ve ideogram şekil 4.3'te verilmiştir.

Kromozom I: Türün en uzun kromozomudur. Toplam boyu 4.06 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 2.50 μm , kısa kol 1.56 μm , kol oranı 1.60, sentromer indeksi % 38.42, nispi boyu % 17.82'dir.

Kromozom II: Kromozomun toplam boyu 3.70 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 2.3 μm , kısa kol 1.40 μm , kol oranı 1.64, sentromer indeksi % 37.84, nispi boyu % 16.24'tür.

Kromozom III: Kromozomun toplam boyu 3.35 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 2.09 μm , kısa kol 1.26 μm , kol oranı 1.66, sentromer indeksi % 37.61, nispi boyu % 14.71'dir.

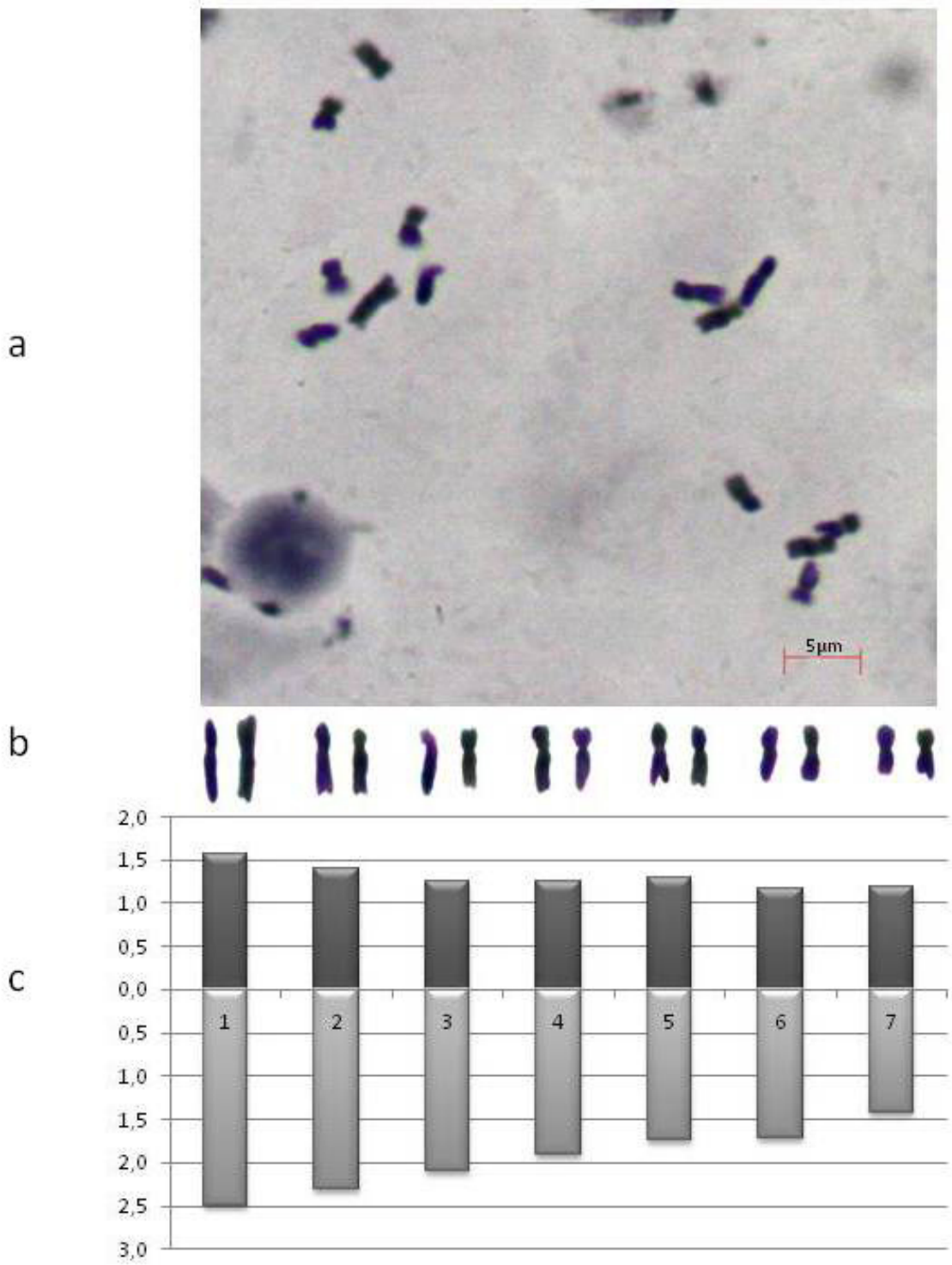
Kromozom IV: Kromozomun toplam boyu 3.14 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 1.90 μm , kısa kol 1.24 μm , kol oranı 1.53, sentromer indeksi % 39.49, nispi boyu % 13.78'dir.

Kromozom V: Kromozomun toplam boyu 3.04 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 1.74 μm , kısa kol 1.30 μm , kol oranı 1.34, sentromer indeksi % 42.76, nispi boyu % 13.35'tir.

Kromozom VI: Kromozomun toplam boyu 2.89 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 1.72 μm , kısa kol 1.17 μm , kol oranı 1.47, sentromer indeksi % 40.48, nispi boyu % 12.69'dur.

Kromozom VII: Toplam boyu 2.60 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 1.42 μm , kısa kol 1.18 μm , kol oranı 1.20, sentromer indeksi % 45.38, nispi boyu % 11.41'dir.

Onobrychis fallax türünün karyotip analizi için yapılan ölçümler Çizelge 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3. *Onobrychis fallax* türünün karyotip analizi ve ideogramı a) hücre fotoğrafı b) karyogram c) ideogram

Çizelge 4.3. *Onobrychis fallax* türünün kromozom tipleri ve uzunlukları

K. No	Kromozom kolları (µm)		Toplam uzunluk (µm)	Satelit	Kol oranı (U/K)	Nispi boy (%)	Sentromerik indeks	Sentromer pozisyonu (Sembol)
	Uzun kol (U)	Kısa kol (K)						
I	2,50±0,39	1,50±0,14	4,06±0,50	-	1,60±0,17	17,82±0,42	38,42±2,65	m
II	2,30±0,20	1,40±0,28	3,70±0,40	-	1,64±0,33	16,24±0,22	37,84±4,37	m
III	2,09±0,32	1,26±0,13	3,35±0,44	-	1,66±0,11	14,71±0,29	37,61±1,64	m
IV	1,90±0,20	1,24±0,25	3,14±0,27	-	1,53±0,39	13,78±0,16	39,49±6,02	m
V	1,74±0,12	1,30±0,19	3,04±0,26	-	1,34±0,17	13,35±0,14	42,76±3,26	m
VI	1,72±0,12	1,17±0,23	2,89±0,24	-	1,47±0,28	12,69±0,14	40,48±4,76	m
VII	1,42±0,18	1,18±0,12	2,60±0,28	-	1,20±0,11	11,41±0,18	45,38±2,21	m

Haploid kromozom uzunluğu: 22,78 µm

Rakamlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

4.1.4. *Onobrychis lasistanica* türünün kromozom özellikleri

Bu türde kromozom özelliklerini belirlemek için hematoxylin-iron boyama yöntemi uygulanmıştır. Türün kromozom sayısı $2n=28$ ($x=7$) olarak bulunmuştur ve kromozomlara ait elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

Kromozom özellikleri: Çalışmada incelenen diğer türlerden farklı ploidi seviyesine sahiptir. Tüm kromozomları median bölgesi olarak gözlenmiş ve satalit bulunmamaktadır. Türe ait hücre fotoğrafı, karyogram ve ideogram şekil 4.4'te verilmiştir.

Kromozom I: Türe ait en uzun kromozomdur ve toplam boy 4.20 µm uzunluktadır. Uzun kol 2.49 µm, kısa kol 1.71 µm, kol oranı 1.46, sentromer indeksi % 40.71, nispi boyu % 8.84'tür.

Kromozom II: Kromozomun toplam boyu 4.02 µm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 2.34 µm, kısa kol 1.68 µm, kol oranı 1.39, sentromer indeksi % 41.79, nispi boyu % 8.46'dır.

Kromozom III: Kromozomun toplam boyu 3.89 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 2.22 μm , kısa kol 1.67 μm , kol oranı 1.33, sentromer indeksi % 42.93, nispi boyu % 8.18'dir.

Kromozom IV: Kromozomun toplam boyu 3.69 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 2.15 μm , kısa kol 1.54 μm , kol oranı 1.40, sentromer indeksi % 41.73, nispi boyu % 7.76'dır.

Kromozom V: Kromozomun toplam boyu 3.66 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 2.12 μm , kısa kol 1.54 μm , kol oranı 1.38, sentromer indeksi % 42.08, nispi boyu % 7.70'tir.

Kromozom VI: Kromozomun toplam boyu 3.55 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 2.12 μm , kısa kol 1.43 μm , kol oranı 1.48, sentromer indeksi % 40.28, nispi boyu % 7.47'dir.

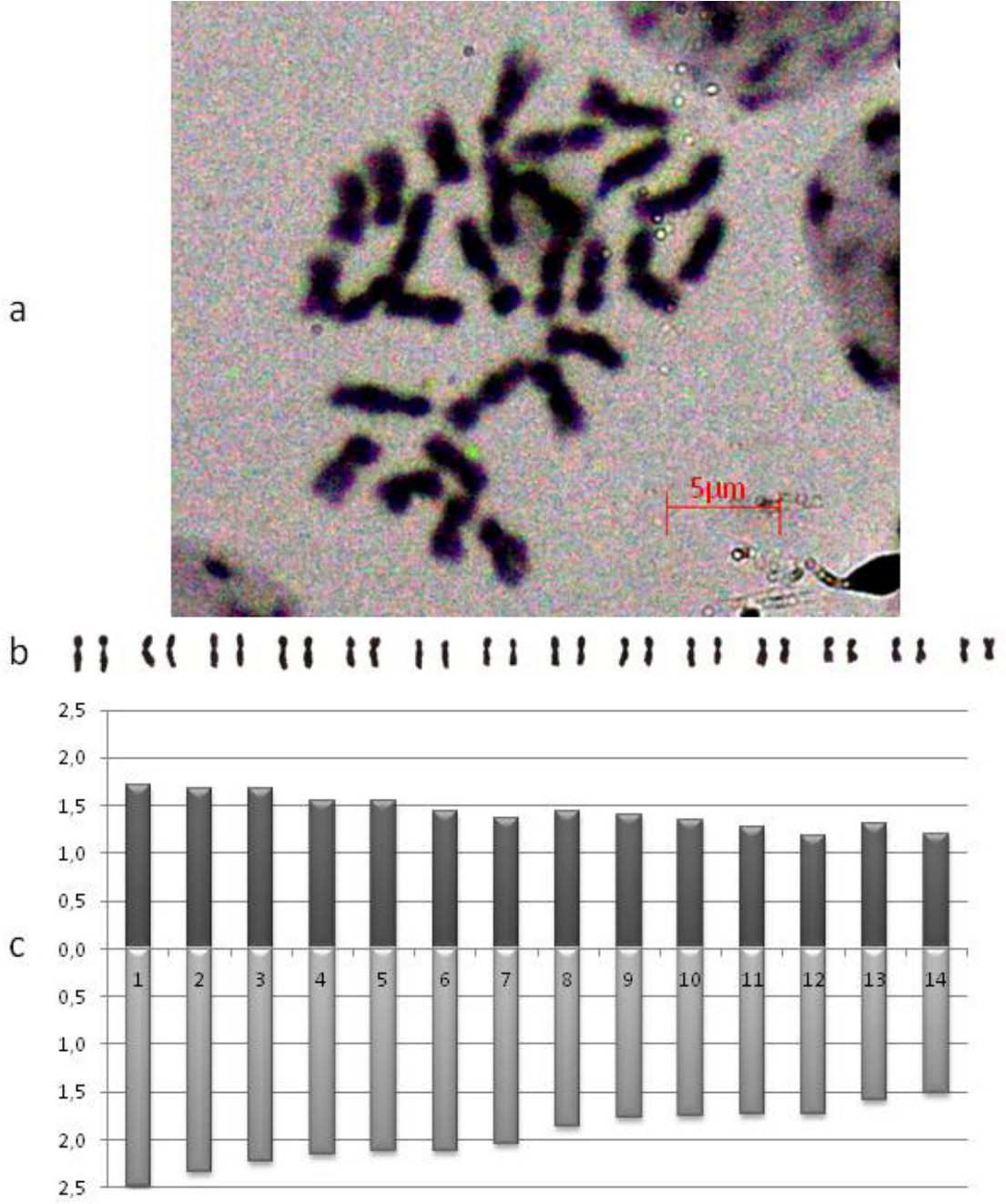
Kromozom VII: Kromozomun toplam boyu 3.41 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 2.04 μm , kısa kol 1.37 μm , kol oranı 1.49, sentromer indeksi % 40.18, nispi boy % 7.17'dir.

Kromozom VIII: Kromozomun toplam boyu 3.31 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 1.87 μm , kısa kol 1.44 μm , kol oranı 1.30, sentromer indeksi % 43.50, nispi boy % 6.96'dır.

Kromozom IX: Kromozomun toplam boyu 3.16 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 1.77 μm , kısa kol 1.39 μm , kol oranı 1.27, sentromer indeksi % 43.99, nispi boy % 6.65'tir.

Kromozom X: Kromozomun toplam boyu 3.09 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 1.75 μm , kısa kol 1.34 μm , kol oranı 1.31, sentromer indeksi % 43.37, nispi boy % 6.50'dir.

Kromozom XI: Kromozomun toplam boyu 3.01 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 1.73 μm , kısa kol 1.28 μm , kol oranı 1.35, sentromer indeksi % 42.52, nispi boy % 6.33'tür.



Şekil 4.4. *Onobrychis lasistanica* türünün karyotip analizi ve ideogramı a) hücre fotoğrafı b) karyogram c) ideogram

Kromozom XII: Kromozomun toplam boyu 2.92 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 1.73 μm , kısa kol 1.19 μm , kol oranı 1.45, sentromer indeksi % 40.75, nispi boy % 6.14'tür.

Kromozom XIII: Kromozomun toplam boyu 2.90 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 1.58 μm , kısa kol 1.32 μm , kol oranı 1.20, sentromer indeksi % 45.52, nispi boy % 6.10'dur.

Kromozom XIV: Kromozomun toplam boyu 2.72 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 1.52 μm , kısa kol 1.20 μm , kol oranı 1.27, sentromer indeksi % 44.12, nispi boy % 5.72'dir.

Onobrychis lasistanica türünün karyotip analizi için yapılan ölçümler Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. *Onobrychis lasistanica* türünün kromozom tipleri ve uzunlukları

K. No	Kromozom kolları (μm)		Toplam uzunluk (μm)	Satelit	Kol oranı (U/K)	Nispi boy (%)	Sentromerik indeks	Sentromer pozisyonu
	Uzun kol (U)	Kısa kol (K)						
I	2,49±0,26	1,71±0,29	4,20±0,22	-	1,46±0,42	8,84±0,19	40,71±6,00	m
II	2,34±0,18	1,68±0,26	4,02±0,37	-	1,39±0,18	8,46±0,07	41,79±3,45	m
III	2,22±0,31	1,67±0,21	3,89±0,47	-	1,33±0,13	8,18±0,16	42,93±2,42	m
IV	2,15±0,20	1,54±0,26	3,69±0,40	-	1,40±0,21	7,76±0,09	41,73±3,55	m
V	2,12±0,33	1,54±0,19	3,66±0,38	-	1,38±0,28	7,70±0,08	42,08±4,82	m
VI	2,12±0,40	1,43±0,17	3,55±0,37	-	1,48±0,42	7,47±0,09	40,28±6,33	m
VII	2,01±0,30	1,37±0,07	3,41±0,30	-	1,49±0,24	7,14±0,11	10,18±4,16	m
VIII	1,87±0,17	1,44±0,20	3,31±0,29	-	1,30±0,22	6,96±0,10	43,50±3,65	m
IX	1,77±0,20	1,39±0,13	3,16±0,35	-	1,27±0,11	6,65±0,10	43,99±2,26	m
X	1,75±0,16	1,34±0,17	3,09±0,29	-	1,31±0,15	6,50±0,06	43,37±2,86	m
XI	1,73±0,20	1,28±0,17	3,01±0,22	-	1,35±0,27	6,33±0,07	42,52±4,55	m
XII	1,73±0,20	1,19±0,22	2,92±0,23	-	1,45±0,48	6,14±0,07	40,75±6,23	m
XIII	1,58±0,12	1,32±0,15	2,90±0,22	-	1,20±0,09	6,10±0,08	45,52±3,45	m
XIV	1,52±0,07	1,20±0,11	2,72±0,17	-	1,27±0,07	5,72±0,15	44,12±1,43	m

Haploid kromozom uzunluğu: 47,53 μm

Rakamlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

4.1.5. *Onobrychis pisidica* türünün kromozom özellikleri

Bu türde kromozom özelliklerini belirlemek için feulgen boyama yöntemi uygulanmıştır. Türün kromozom sayısı $2n=14$ ($x=7$) olarak bulunmuştur ve kromozomlara ait elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

Kromozom özellikleri: Türün tüm kromozomları median bölgedir. Kromozom uzunlukları birbirine yakın bulunmuştur. I numaralı kromozomda satalit tespit edilmiştir. Türe ait hücre fotoğrafı, karyogram ve ideogram şekil 4.5'te verilmiştir.

Kromozom I: Türe ait en uzun kromozomdur ve $2.67 \mu\text{m}$ olarak ölçülmüştür. Kromozomda $0,52 \mu\text{m}$ uzunluğunda satalit tespit edilmiştir. Uzun kol $1.28 \mu\text{m}$, kısa kol $0.87 \mu\text{m}$, kol oranı 1.47, sentromer indeksi % 32.58, nispi boy % 19.53'tir.

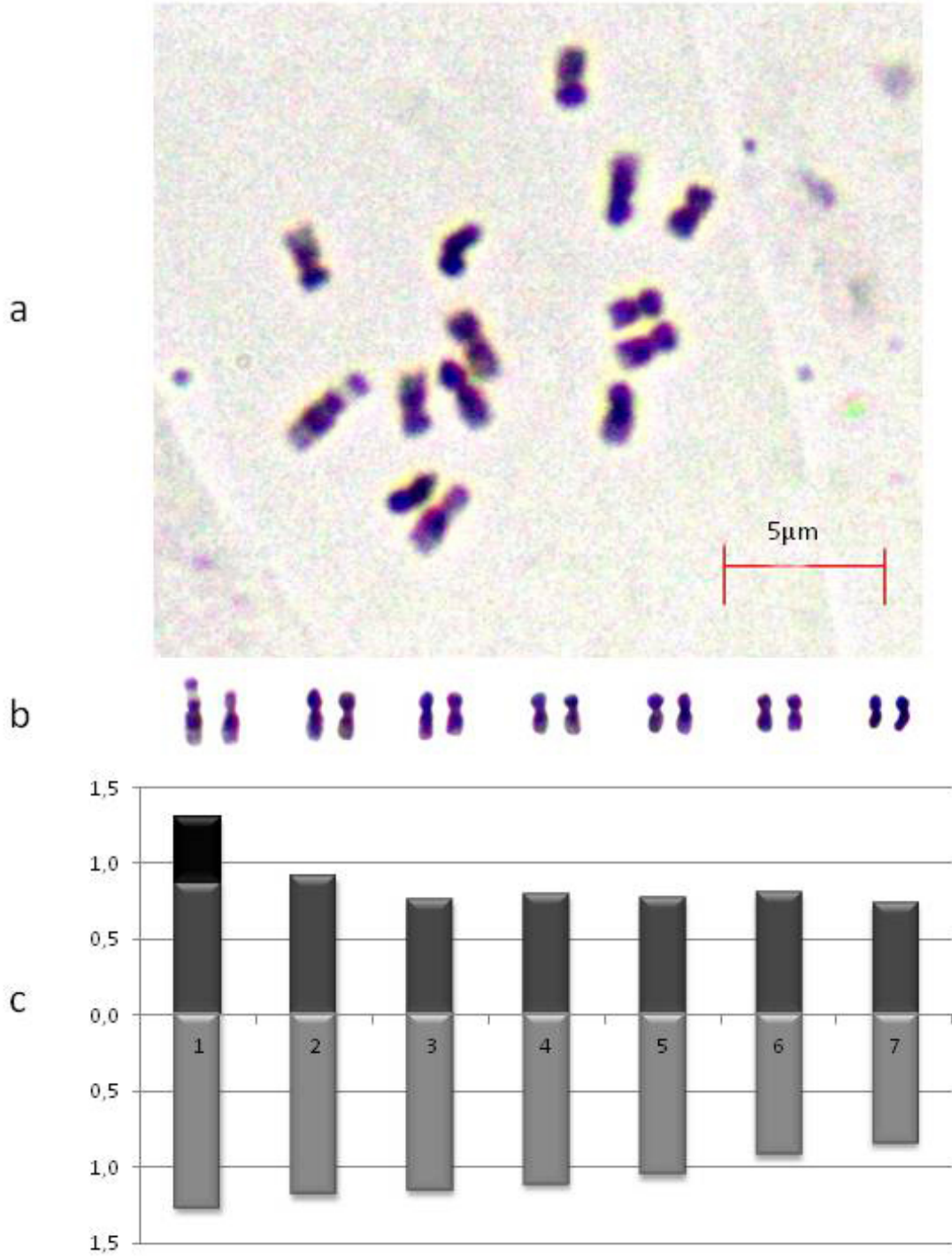
Kromozom II: Kromozomun toplam boyu $2.10 \mu\text{m}$ olarak ölçülmüştür. Uzun kol $1.19 \mu\text{m}$, kısa kol $0.91 \mu\text{m}$, kol oranı 1.31, sentromer indeksi % 43.33, nispi boy % 15.36'dir.

Kromozom III: Kromozomun toplam boyu $1.92 \mu\text{m}$ olarak ölçülmüştür. Uzun kol $1.16 \mu\text{m}$, kısa kol $0.76 \mu\text{m}$, kol oranı 1.53, sentromer indeksi % 39.58, nispi boy % 14.05'dir.

Kromozom IV: Kromozomun toplam boyu $1.91 \mu\text{m}$ olarak ölçülmüştür. Uzun kol $1.12 \mu\text{m}$, kısa kol $0.79 \mu\text{m}$, kol oranı 1.42, sentromer indeksi % 41.36, nispi boy % 13,97'tür.

Kromozom V: Kromozomun toplam boyu $1.83 \mu\text{m}$ olarak ölçülmüştür. Uzun kol $1.06 \mu\text{m}$, kısa kol $0.77 \mu\text{m}$, kol oranı 1.38, sentromer indeksi % 42.08, nispi boy % 13.39'tür.

Kromozom VI: Kromozomun toplam boyu $1.73 \mu\text{m}$ olarak ölçülmüştür. Uzun kol $0.93 \mu\text{m}$, kısa kol $0.8 \mu\text{m}$, kol oranı 1.16, sentromer indeksi % 46.24, nispi boy % 12.66'dir.



Şekil 4.5. *Onobrychis pisdica* türünün karyotip analizi ve ideogramı a) hücre fotoğrafı b) karyogram c) ideogram

Kromozom VII: Kromozomun toplam boyu 1.59 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 0.85 μm , kısa kol 0.74 μm , kol oranı 1.15, sentromer indeksi % 46.54, nispi boy % 11.63'dir.

Onobrychis pisidica türünün karyotip analizi için yapılan ölçümler Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5. *Onobrychis pisidica* türünün kromozom tipleri ve uzunlukları

K. No	Kromozom kolları (μm)		Toplam uzunluk (μm)	Satelit	Kol oranı (U/K)	Nispi boy (%)	Sentromerik indeks	Sentromer pozisyonu
	Uzun kol (U)	Kısa kol (K)						
I	1,28±0,30	0,87±0,21	2,67±0,40	0,52±0,12	1,47±0,73	19,53±0,95	32,58±6,49	m
II	1,19±0,15	0,91±0,08	2,10±0,17	-	1,31±0,23	15,35±0,43	43,33±5,60	m
III	1,16±0,20	0,76±0,11	1,92±0,10	-	1,53±0,23	14,05±0,34	39,58±4,17	m
IV	1,12±0,05	0,79±0,15	1,91±0,14	-	1,42±0,31	13,97±0,34	41,36±5,18	m
V	1,06±0,12	0,77±0,05	1,83±0,13	-	1,38±0,17	13,39±0,28	42,08±3,18	m
VI	0,93±0,11	0,80±0,07	1,73±0,15	-	1,16±0,13	12,66±0,33	46,24±2,58	m
VII	0,85±0,08	0,74±0,09	1,59±0,13	-	1,15±0,16	11,63±0,23	46,54±3,33	m

Haploid kromozom uzunluğu: 13,75 μm

Rakamlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

4.1.6. *Onobrychis podperae* türünün kromozom özellikleri

Bu türde kromozom özelliklerini belirlemek için hematoxylin-iron boyama yöntemi uygulanmıştır. Türün kromozom sayısı $2n=14$ ($x=7$) olarak bulunmuştur ve kromozomlara ait elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

Kromozom özellikleri: I ve II numaralı kromozomlar submedian bölgeyi oluşturan diğerleri median bölgeyi oluşturmuştur. Türüne ait hücre fotoğrafı, karyogram ve ideogram şekil 4.6'da verilmiştir.

Kromozom I: Türün en uzun kromozomudur. Boyu 4.10 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 2.70 μm , kısa kol 1.40 μm , kol oranı 1.93, sentromer indeksi % 34.15, nispi boy % 18.11'dir.

Kromozom II: Toplam boyu 3.85 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 2.59 μm , kısa kol 1.26 μm , kol oranı 2.06, sentromer indeksi % 32.73, nispi boy % 17.01'dir.

Kromozom III: Toplam boyu 3.44 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 2.16 μm , kısa kol 1.28 μm , kol oranı 1.69, sentromer indeksi % 37.21, nispi boy % 15.19'dur.

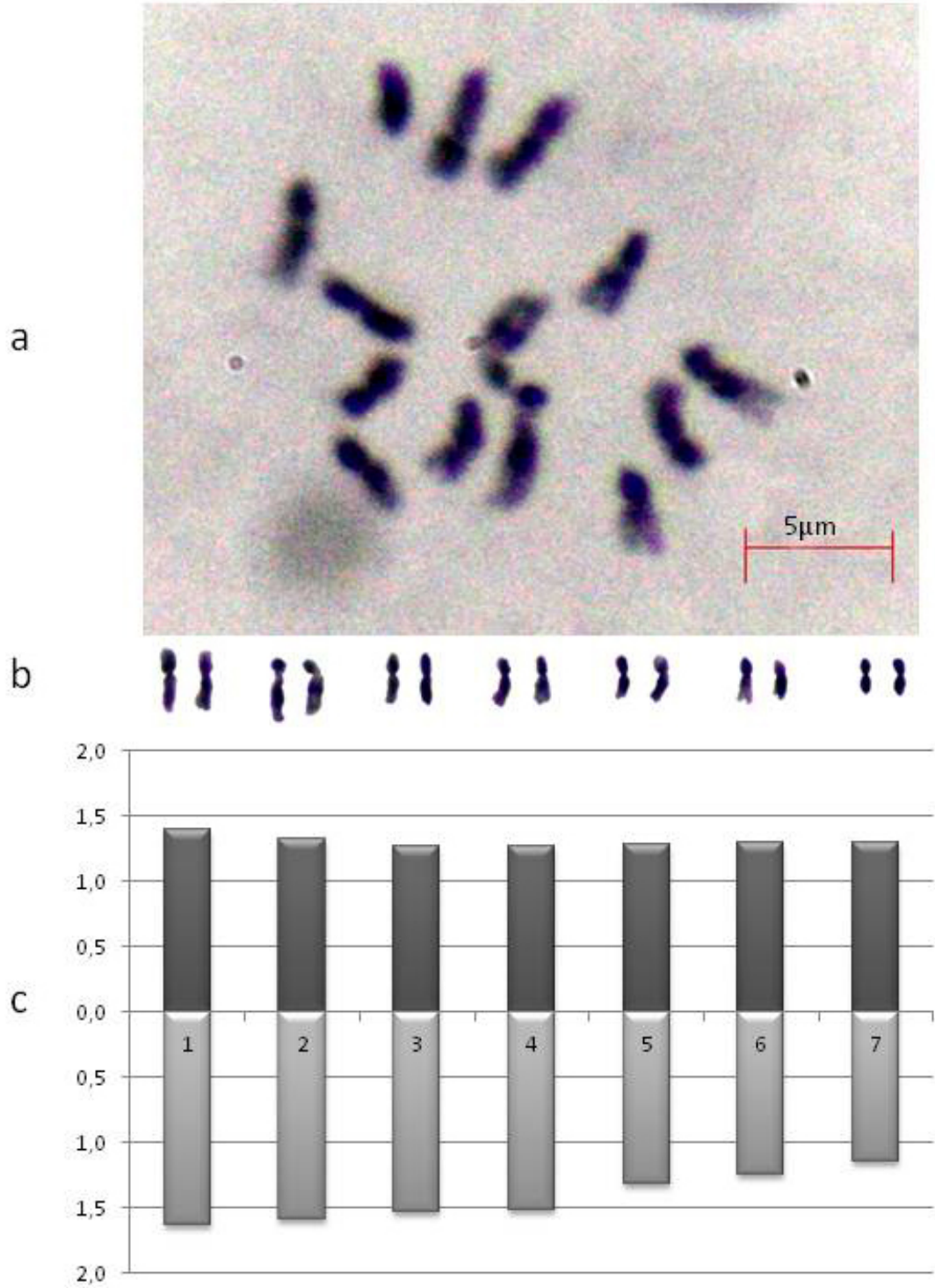
Kromozom IV: Toplam boyu 3.23 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 1.93 μm , kısa kol 1.30 μm , kol oranı 1.48, sentromer indeksi % 40.25, nispi boy % 14.27'dir.

Kromozom V: Toplam boyu 2.94 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 1.62 μm , kısa kol 1.32 μm , kol oranı 1.23, sentromer indeksi % 44.90, nispi boy % 12.99'dur.

Kromozom VI: Toplam boyu 2.64 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 1.51 μm , kısa kol 1.13 μm , kol oranı 1.34, sentromer indeksi % 42.80, nispi boy % 11.66'dir.

Kromozom VII: Toplam boyu 2.44 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 1.40 μm , kısa kol 1.04 μm , kol oranı 1.35 μm , sentromer indeksi % 42.62, nispi boy % 10.78'dir.

Onobrychis podperae türünün karyotip analizi için yapılan ölçümler Çizelge 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.6. *Onobrychis podperae* türünün karyotip analizi ve ideogramı a) hücre fotoğrafı b) karyogram c) ideogram

Çizelge 4.6. *Onobrychis podperae* türünün kromozom tipleri ve uzunlukları

K. No	Kromozom kolları (µm)		Toplam uzunluk (µm)	Satelit	Kol oranı (U/K)	Nispi boy (%)	Sentromerik indeks	Sentromer pozisyonu
	Uzun kol (U)	Kısa kol (K)						
I	2,70±0,17	1,40±0,30	4,10±0,38	-	1,93±0,40	18,11±0,41	34,15±4,61	sm
II	2,59±0,58	1,26±0,15	3,85±0,64	-	2,06±0,47	17,01±0,60	32,73±4,87	sm
III	2,16±0,36	1,28±0,12	3,44±0,36	-	1,69±0,36	15,19±0,29	37,21±5,38	m
IV	1,93±0,31	1,30±0,11	3,23±0,42	-	1,48±0,13	14,27±0,37	40,25±2,12	m
V	1,62±0,23	1,32±0,06	2,94±0,27	-	1,23±0,16	12,99±0,08	44,90±3,36	m
VI	1,51±0,07	1,13±0,12	2,64±0,17	-	1,34±0,12	11,66±0,24	42,80±2,22	m
VII	1,40±0,16	1,04±0,16	2,44±0,24	-	1,35±0,23	10,78±0,49	42,62±4,21	m

Haploid kromozom uzunluğu: 22,64 µm

Rakamlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

4.1.7. *Onobrychis sulphurea* türünün kromozom özellikleri

Kromozom sayısı: $2n=14$, $x=7$

Kromozom özellikleri: II ve III numaralı kromozomlar submedian bölgesi olarak gözlenmiştir. Diğer kromozomlar median bölgedir. Ayrıca II numaralı kromozomda satalit tespit edilmiştir. Türe ait hücre fotoğrafı, karyogram ve ideogram şekil 4.7’de verilmiştir.

Kromozom I: Türün en uzun kromozomudur. Boy 4.30 µm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 2.66 µm, kısa kol 1.64 µm, kol oranı 1.62, sentromer indeksi % 38.14, nispi boy % 17.72’dir.

Kromozom II: Kromozomun toplam boyu 3.97 µm olarak ölçülmüştür. Ayrıca bu kromozomda 1.16 µm uzunluğunda bir satalit gözlenmiştir. Uzun kol 1.84 µm, kısa kol 0.97 µm, kol oranı 1.90, sentromer indeksi % 24.43, nispi boy % 16.36’dir.

Kromozom III: Kromozomun toplam boyu 3.66 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 2.35 μm , kısa kol 1.31 μm , kol oranı 1.79, sentromer indeksi % 35.79, nispi boy % 15.08'dir.

Kromozom IV: Kromozomun toplam boyu 3.36 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 2.06 μm , kısa kol 1.30 μm , kol oranı 1.58, sentromer indeksi % 38.69, nispi boy % 13.84'tür.

Kromozom V: Kromozomun toplam boyu 3.18 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 1.84 μm , kısa kol 1.34 μm , kol oranı 1.37, sentromer indeksi % 42.14, nispi boy % 13.10'dur.

Kromozom VI: Kromozomun toplam boyu 3.03 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 1.66 μm , kısa kol 1.37 μm , kol oranı 1.21, sentromer indeksi % 45.21, nispi boy % 12.48'dir.

Kromozom VII: Kromozomun toplam boyu 2.77 μm olarak ölçülmüştür. Uzun kol 1.50 μm , kısa kol 1.27 μm , kol oranı 1.18, sentromer indeksi % 45.85, nispi boy % 11.41'dir.

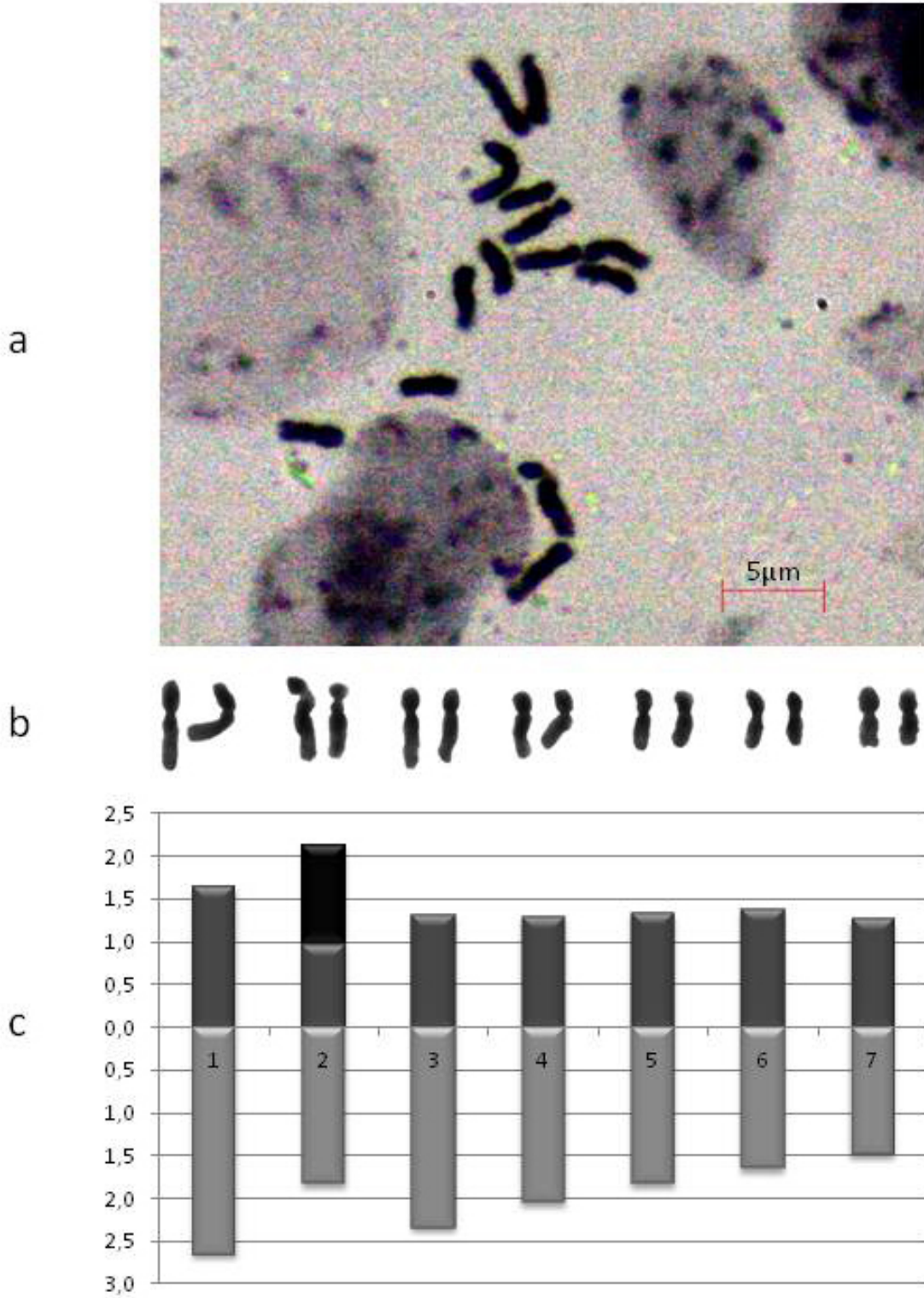
Onobrychis sulphurea türünün karyotip analizi için yapılan ölçümler Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. *Onobrychis sulphurea* türünün kromozom tipleri ve uzunlukları

K. No	Kromozom kolları (μm)		Toplam uzunluk (μm)	Satelit	Kol oranı (U/K)	Nispi boy (%)	Sentromerik indeks	Sentromer pozisyonu
	Uzun kol (U)	Kısa kol (K)						
I	2,66±0,30	1,64±0,17	4,30±0,38	-	1,62±0,22	17,72±0,54	38,14±3,25	m
II	1,84±0,18	0,97±0,08	3,97±0,22	1,16±0,24	1,90±0,26	16,36±0,33	24,43±1,63	sm
III	2,35±0,26	1,31±0,25	3,66±0,25	-	1,79±0,66	15,08±0,20	35,79±6,29	sm
IV	2,06±0,35	1,30±0,12	3,36±0,35	-	1,58±0,34	13,84±0,27	38,69±5,17	m
V	1,84±0,19	1,34±0,20	3,18±0,30	-	1,37±0,23	13,10±0,25	42,14±3,97	m
VI	1,66±0,13	1,37±0,14	3,03±0,22	-	1,21±0,15	12,48±0,16	45,21±2,95	m
VII	1,50±0,17	1,27±0,13	2,77±0,30	-	1,18±0,04	11,41±0,34	45,85±0,86	m

Haploid kromozom uzunluğu: 24,27 μm

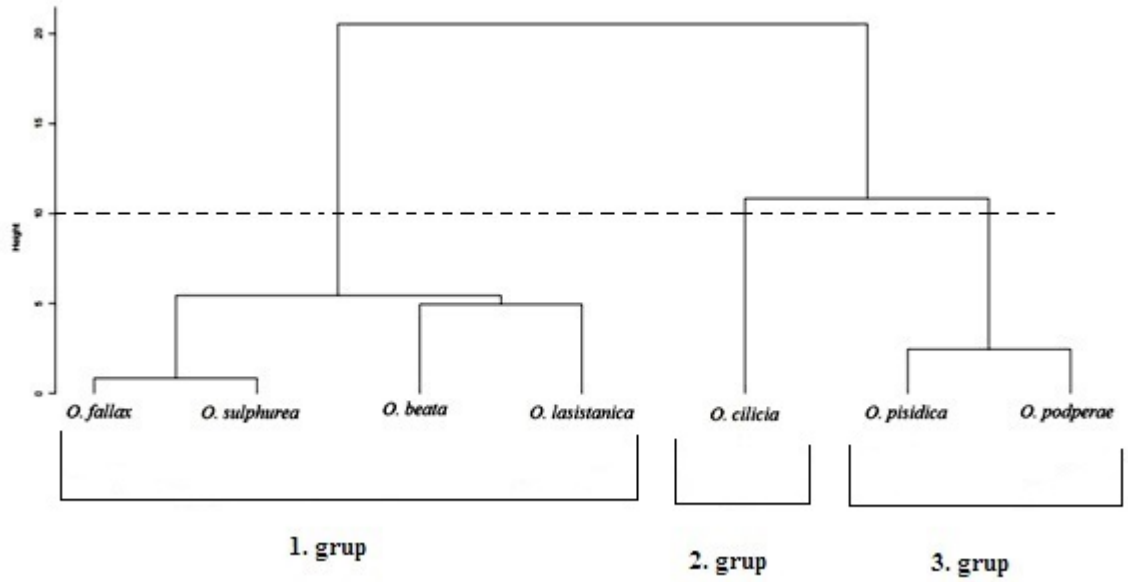
Rakamlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.



Şekil 4.7. *Onobrychis sulphurea* türünün karyotip analizi ve ideogramı a) hücre fotoğrafı b) karyogram c) ideogram

4.2. Gözlem Yapılan Korunga Türlerinin Dendogram Özellikleri

Karyotip ölçümleri yapılan 7 türde filogenetik ilişkiyi belirlemek için hiyerarşik kümeleme analizi yapılmış ve dendogram oluşturulmuştur (Şekil 4.8). Kümeleme analizi için her türe ait I numaralı kromozomun uzun kol, kısa kol, toplam uzunluk, satalit, kol oranı, nispi boy ve sentromerik indeks ölçümleri kullanılmıştır. Dendogram sonuçlarına göre 3 grup ortaya çıkmıştır. 1. grupta *O. fallax*, *O. sulphurea*, *O. beata* ve *O. lasistanica* türleri, 2. grupta sadece *O. cilicia* türü ve 3. grupta *O. pisidica* ve *O. podperae* türleri bulunmaktadır.



Şekil 4.8. Karyotip özellikleri yönünden ele alınan 7 türe ait kümeleme analizi sonucu

5. TARTIŞMA

Onobrychis cinsi *Onobrychis* seksiyonuna ait 7 korunga türü (*O. fallax*, *O. sulphurea*, *O. cilicica*, *O. pisidica*, *O. beata*, *O. podperae*, *O. lasistanica*) üzerinde karyolojik gözlemler yapılmıştır. İncelenen türlerin tamamı endemik olup *O. fallax* türü dışında diğer türlerin karyotip analizleri ile ilgili literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Kromozom sayıları ve morfolojilerinin belirlenebilmesi için ilk aşamada hücre bölünmesini durdurmak gerekmektedir. Bu amaçla, çok farklı yöntemler ve kimyasal çözeltiler kullanılabilir. Daha önce yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde eriyen buz yöntemi ve α -monobromo naftalin çözeltisinin ilk işlem için uygun olduğu görülmüştür. Öncelikle *O. pisidica* türünde kök uçları 4 °C'de 24 saat boyunca eriyen buz içinde bekletilerek ilk işlem yapılmıştır. Bu türde boyamanın iyi olduğu görülmüş ve karyotip analizleri için görüntü alınmıştır. Bununla birlikte, bu yöntemin kullanıldığı diğer türlerde iyi bir boyama sağlanamamış ve kromozom boyları küçülmüştür. Yaptığımız çalışmaya benzer şekilde Akçelik (2012), bazı korunga türleri üzerinde ilk işlem için eriyen buz yöntemini kullanmış ve kromozomların kısalıp kalınlaşarak kontraste olduğunu bildirmiştir. Türler arasında kromozom kısalması ve kalınlaşması nedeniyle görülen bu değişkenlikler karyotip analizleri için uygun değildir (Akçelik, 2009). Bu nedenle diğer 6 türde yapılan ilk işlem uygulamalarında % 0.5'lik α -monobromo naftalin çözeltisi kullanılmıştır. Bu yöntemde kök uçları % 0.5'lik α -monobromo naftalin çözeltisi içerisinde 4 °C'de 4 saat süre ile bekletilmiştir. Bu ilk işlem uygulamasının yapıldığı 6 türde hücre bölünmesi durdurulmuş, başarılı bir şekilde boyanma sağlanmış ve kromozomlarda bir kısalmaya rastlanmamıştır. Elena (2006) ve Hejazi and Mahdi (2010), bazı korunga türleri üzerinde yaptıkları çalışmalarda ilk işlem çözeltisi olarak α -monobromo naftalin ile 4 saat boyunca bekletmenin başarılı olduğunu belirtmişlerdir. Öztürk et al. (2009) ve Arslan et al. (2012)'ne göre ise kök uçlarının aynı çözelti içerisinde 16 saat süre ile bekletilmesi başarılı sonuçlar vermiştir.

Hücrelerde kromozom gözlemi yapabilmek için ikinci aşamada canlı olan bu materyalin normal hayattaki haline en yakın gözükcek şekilde öldürülmesi gerekmektedir. Yapılan incelemeler sonucu boyama tipine göre değişmekle birlikte tespit işlemi için korunga türlerinde en yaygın olarak absö etil alkol + glasiyal asetik asit çözeltisi (3:1) ve % 10 formaldehit + % 1 kromik asit (1:1) çözeltisi kullanılmıştır. Çalışmamızda ilk olarak *O. pisidica* türünde feulgen boyaması yapıldığı için tespit işleminde 24 saat süre ile absö etil alkol + glasiyal asetik asit çözeltisi (3:1) kullanılmıştır. Bununla birlikte, hematoxylin-iron boyaması yapıldığında tespit için 16 saat süre ile % 10 formaldehit + % 1 kromik asit (1:1) çözeltisi kullanılmıştır. Tespit işlemi için Hejazi and Mahdi (2010), % 10 formaldehit + % 1 kromik asit (1:1) çözeltisi kullanarak iyi bir boyama elde etmiş ve kromozom görüntüsü almıştır. Yine Abou-El-Enain (2002), absö etil alkol + glasiyal asetik asit çözeltisi (3:1) kullanarak iyi derecede tespit işlemi gerçekleştirmiştir. Tespit çözeltisinden çıkartılan kök uçları Hejazi and Mahdi (2010)'nin bildirdiği şekilde 3 saat süre ile saf su içerisinde bekletilmiş ve bu sayede boyamanın arttığı görülmüştür.

Kromozom gözlemlerinde üçüncü aşamada hidroliz işlemi ile dokuları birbirinden ayırıp tek düzleme yayılmasını kolaylaştırarak hücrelerin daha iyi boyanmasını ve aynı zamanda kromozomların da daha net görülebilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada hidroliz işlemi için boyama tipine göre değişen iki farklı çözelti kullanılmıştır. *O. pisidica* türünde feulgen boyaması için Abou-El-Enain (2002), Elena (2006), Öztürk et al. (2009), Akçelik et al. (2012) ve Arslan et al. (2012)'nin bildirdikleri şekilde 1 N HCl çözeltisi 12 dakika süre ile diğer türlerde ise Zarifi (2009), Hejazi and Mahdi (2010) ve Ghanavati et al. (2012)'nin bildirdikleri şekilde hematoxylin-iron boyaması için 1 N NaOH kullanılmıştır. Çalışmamızda su banyosundaki hidroliz sıcaklığı 60 °C olup hidroliz süresi türlere göre değişmiştir. *O. pisidica* türünde 12 dakika, *O. sulphurea* türünde 7 dakika, *O. fallax*, *O. beata* ve *O. podperae* türlerinde 10 dakika, *O. cilicica* ve *O. lasistanica* türlerinde 12 dakika bekletme süresi başarılı sonuç vermiştir. Yıldırım (2007), yaptığı çalışmada bu sürenin türlere göre değiştiğini belirlemiştir.

Karyotip gözlemleri yapabilmek için dördüncü aşama boyama işlemidir. Kullanılan hidroliz çözeltisi, hangi boyama yönteminin kullanılacağını da belirlemektedir. Bu sebeple, 1 N HCl çözeltisi ile hidroliz edilen *O. pisidica* türü üzerinde 1 saat süre ile feulgen boyaması yapılmış ve ardından 15 dakika aseto-orsein çözeltisinde bekletilmiştir. Bu türde kromozom boyanması ve kalitesi aynı yöntemi kullanan Sepet et al. (2011)'nin bildirdiği şekilde iyi olmuştur. Ayrıca, feulgen boyaması ile Abou-El-Enain (2002), ve Akçelik et al. (2012), farklı korunga türlerinde iyi sonuçlar elde etmişlerdir. Diğer türlerde ise Hejazi and Mahdi (2010) ve Ghanavati et al (2012)'nin bildirdikleri gibi hidrolizde 1 N NaOH kullanılmış ve boyama hematoxylin-iron çözeltisi ile 3-4 saat sürede karanlıkta yapılmıştır. Bununla birlikte, bu boyama yönteminde kök uçları boyama sonrası sertleşmiş ve preparat yapımı zorlaşmıştır. Ghanavati et al. (2012)'nin bildirdiği gibi kök uçları belirli sürelerde hücre çeperini yumuşatan enzimler ile muamele edilmiş ve preparatlar kolaylıkla yapılmıştır.

Mikroskopta kromozomları tek düzleme yayılmış şekilde incelemek için ezmeyi kolaylaştırıcı ya da boyamayı artırıcı bazı çözeltilerin kullanılması gerekebilir. Boyamanın yetersiz olduğu durumlarda bazı araştırmacılar ezme preparat yapımı sırasında aseto-karmin (Abou-El-Enain, 2002), laktopropiyonik-orsein (Akçelik et al., 2012), aseto-orsein (Arslan et al., 2012) veya % 45 asetik asit ve laktik asit (10:1) gibi ilave boya çözeltileri kullanmışlardır. Bu çalışmada, ezme preparat yapımı sırasında feulgen boyaması yapılan kök uçları için laktopropiyonik-orsein çözeltisi, hematoxylin-iron boyaması yapılmış kök uçları için ise % 45 asetik asit ve laktik asit çözeltisi (10:1) kullanılmıştır. Bu sayede ezme işlemi kolaylıkla yapılmış, boyama arttırılmış ve alınan görüntülerde kromozomlar tek düzleme yayılmıştır.

Bir genotipte karyolojik gözlemler yapabilmek için en az 5 farklı kromozom özelliğinin karşılaştırılması gerekmektedir (Stebbins, 1970). Bu özellikler, kromozom büyüklüğü, kromozom nispi büyüklüğü, sentromer pozisyonu, temel kromozom sayısı ve satalit sayısı ile pozisyonu olarak belirtilmiştir. Bu çalışmada yapılan karyotip analizlerinde Hejazi and Mahdi (2010); Akçelik et al. (2012) ve Ghanavati et al. (2012)'nin bildirdiği şekilde öncelikle kol boyları, varsa satalit uzunluğu belirlenmiş ve sonra toplam boy hesaplanarak bu ölçümler üzerinden diğer değerler hesaplanmıştır.

Yapılan karyotip analizlerine göre incelenen 7 türde temel kromozom sayısı $x=7$ olarak belirlenmiştir. Korunga türleri üzerinde yapılan diğer çalışmalarda temel kromozom sayılarının benzer şekilde $x=7$ veya $x=8$ olduğu belirtilmiştir (Abou-El-Enain 2002; Hejazi and Mahdi, 2010; Ghanavati et al., 2012). Bununla birlikte, yapılan gözlemler sonucu *O. lasistanica* türünün tetraploid ($2n=28$), diğer türlerin ise diploid ($2n=14$) olduğu tespit edilmiştir. Genellikle korunga türlerinde ploidi seviyesi diploid olup bazı türlerde tetraploid ploidi seviyesine rastlanmaktadır. Polishvaiko and Kononenko (1974), kültür korungası (*O. viciifolia*) üzerinde yaptıkları karyolojik incelemelerde bu türün tetraploid ploidi seviyesine sahip olduğu görmüşlerdir. Aynı şekilde, *Onobrychis altissima* Grossh. ve *Onobrychis arenaria* (Ornduff, 1968) türlerinde de tetraploid ploidi seviyesi tespit edilmiştir. İncelenen türlerin kromozomları sentromer bölgelerine göre median bölgeden submedian bölgeye kadar değişmiştir. Korunga türleri üzerinde yapılan birçok çalışmada (Hejazi and Mahdi, 2010; Sepet et al., 2011; Ghanavati et al., 2012) kromozomların mediandan submediana kadar değiştiği belirtilmiştir. Sepet et.al., (2011) yaptıkları çalışmada *Onobrychis fallax* Freyn & Sint. var. *fallax* taksonunun ploidi seviyesinin diploid, temel kromozom sayısının ise $x=7$ olduğunu belirlemişlerdir. Aynı zamanda, tüm kromozomların median sentromerli olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmada *O. fallax* türünün yeni tanımlanan varyetesi (var. *longifolia* Aktoklu var. Nov) çalışılmıştır. Bu çalışmada da Sepet et al. (2011) çalışmasına benzer şekilde ploidi seviyesi, somatik kromozom sayısı, temel kromozom sayısı ve sentromer bölgesine göre kromozomun durumu aynı çıkmıştır.

Karyotip özellikleri incelenen 7 türde oluşturulan dendogram sonuçlarına göre 3 grup ortaya çıkmıştır. Dendogram sonuçlarına göre, *O. beata* ve *O. lasistanica* türleri aynı grup içerisinde yer alırken, yine *O. podperae* ve *O. pisidica* türleri ayrı bir grup içerisinde aynı kümede yer almışlardır. Avcı et al. (2013) bazı korunga türlerinin polen özellikleri üzerine yaptıkları çalışmada *O. podperae* ve *O. pisidica* türlerinin aynı grupta yer aldığını bildirmişlerdir. Yine Avcı et al. (2014) farklı korunga türleri üzerinde SSR markırlarıyla yaptıkları çalışmada *O. beata* türü ile *O. lasistanica* türlerinin aynı kümede yer aldığını tespit etmişlerdir. Bu bulgulara benzer şekilde, Avcı (2010) *Onobrychis* seksiyonu içerisinde yer alan bazı korunga türlerinin morfolojik

özelliklerini dikkate alarak kümeleme analizi yapmış ve yukarıdaki bahsedilen türlerin birbirine yakın gruplar içerisinde yer aldığını bildirmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, *Onobrychis* cinsi *Onobrychis* seksiyonuna ait 7 endemik korunga türü üzerinde karyolojik çalışmalar yapılmıştır. İncelenen türlerde temel kromozom sayısı $x=7$ olarak bulunmuştur. Ayrıca, diploid ($2n=14$) ve tetraploid ($2n=28$) ploidi seviyeleri tespit edilmiştir. Çalışılan türlerin kromozomları median ya da submedian bölgele olduğundan cinsin karyotip özelliğinin simetrik olduğu sonucuna varılmıştır. Kromozom gözlemleri yapılan ve karyolojik özellikleri belirlenen türlerin özet bilgileri aşağıda verilmiştir.

O. beata türünün somatik kromozom sayısının ($2n$) 14 olduğu ve ploidi seviyesinin diploid olduğu kaydedilmiştir. Tüm kromozomlarının median sentromerli olduğu ve satalit bulunmadığı görülmüştür.

O. cilicica türünde ploidi seviyesi diploid ve somatik kromozom sayısı ($2n$) 14 olup I, II ve IV numaralı kromozomlar submedian, diğerleri median özelliktedir. Ayrıca, I numaralı kromozomda satalit tespit edilmiştir.

O. fallax türünün somatik kromozom sayısının ($2n$) 14 ve ploidi seviyesinin diploid olduğu kaydedilmiştir. Tüm kromozomların median sentromerli olduğu belirlenmiştir.

O. lasistanica türünde somatik kromozom sayısının ($2n$) 28 ve ploidi seviyesinin tetraploid olduğu belirlenmiştir. Tüm kromozomların sentromer pozisyonuna göre median olduğu görülmüştür.

O. pisidica, türünün ploidi seviyesi diploid, somatik kromozom sayısının ise ($2n$) 14 olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, tüm kromozomları median sentromerli ve I numaralı kromozomunda satalit tespit edilmiştir.

O. podperae türünde ploidi seviyesi diploid ve somatik kromozom sayısı (2n) 14 olarak kaydedilmiştir. I ve II numaralı kromozomlarının submedian sentromerli, diğer kromozomlarının ise median sentromerli olduğu görülmüştür.

O. sulphurea türünün ploidi seviyesinin diploid ve somatik kromozom sayısının (2n) 14 olduğu tespit edilmiştir. II ve III numaralı kromozomlarının submedian, diğerlerinin ise median sentromerli olduğu ve II numaralı kromozomda satalit olduğu tespit edilmiştir.

Türlere ait ploidi seviyeleri, somatik kromozom sayıları, satalit durumları ve başarı sağlanan boyama yöntemleri Çizelge 6.1.'de verilmiştir.

Çizelge 6.1. İncelenen 7 korunga türüne ait somatik kromozom sayıları, kromozom özellikleri ve uygulanan boyama yöntemleri

No	Tür Adı	Ploidi seviyesi ve somatik kromozom sayısı	Satalit durumu	Boyama yöntemi
1	<i>O. fallax</i> var. <i>longifolia</i>	Diploid, 2n = 14	-	Hematoxylin-iron
2	<i>O. sulphurea</i>	Diploid, 2n = 14	+	Hematoxylin-iron
3	<i>O. cilicica</i>	Diploid, 2n = 14	+	Hematoxylin-iron
4	<i>O. pisidica</i>	Diploid, 2n = 14	+	Feulgen
5	<i>O. beata</i>	Diploid, 2n = 14	-	Hematoxylin-iron
6	<i>O. podperae</i>	Diploid, 2n = 14	-	Hematoxylin-iron
7	<i>O. lasistanica</i>	Tetraploid, 2n = 28	-	Hematoxylin-iron

İncelenen türler arasında akrabalık ilişkilerinin belirlenebilmesi için kromozom özelliklerine bağlı olarak yapılan hiyerarşik kümeleme analizi sonucunda 3 grup oluşmuştur. Bu sitotaksonomik analiz sonucunda daha önce Avcı vd. (2014) tarafından yapılan morfolojik ve moleküler markır çalışmalarına benzer şekilde gruplamalar oluşmuştur. Böylece özellikle *O. beata* ve *O. lasistanica* türleri ile *O. pisidica* ve *O. podperae* türleri arasındaki akrabalık ilişkilerinin yüksek olduğu kanısına varılmıştır.

Korunga kurak ve yarı kurak bölgelerde yetişme potansiyeline sahip çok önemli bir baklagil yem bitkisidir. Bununla birlikte, piyasanın isteklerine uygun çeşit ıslahı konusunda ülkemizde sınırlı sayıda çalışma vardır. Özellikle, ülkemizde korungada

biyotik ve abiyotik stres koşullarına dayanıklılık için kullanılabilir çok sayıda yabancı korunga türü doğal olarak yetişmektedir. Bu türler mevcut ve gelecekte karşılaşılabilecek problemlerin çözümünde yardımcı olabilir. Bu nedenle bu türlerin kromozom yapılarıyla ilgili bilgi sahibi olmak ıslah sürecinde kullanımlarını kolaylaştıracaktır. Kültür korungasının da içinde bulunduğu *Onobrychis* seksiyonuna ait 7 türün karyotipik özellikleri, diğer türler ve kültür türleriyle melezlenme olasılığının belirlenmesi açısından faydalı olacaktır. Bu çalışma sonrası gelişmiş kromozom görüntüleme yöntemleriyle daha detaylı bir karyotipleme yapılabilir ve bu çalışmalar birlikte değerlendirilerek korunga ıslah çalışmalarında kullanılabilir.

7. KAYNAKLAR

- Abou-El-Enain, M., 2002, Chromosomal criteria and their phylogenetic implications in the genus *Onobrychis* Mill. Sect. *lophobrychis* (*Leguminosae*), with special reference to Egyptian species. Bot J Linn Soc, 139: 409-414.
- Abuş, Y., 2013, Türkiye’de doğal olarak yetişen *Hymenobrychis* seksiyonuna ait bazı *Onobrychis* türlerinin karyolojik özellikleri. Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, 56 s.
- Açıkgöz, E., 2001, Yem Bitkileri, Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı Yayın No: 182, VİPAŞ AŞ Yayın No: 58, İstanbul, 584 s.
- Açıkgöz, E., R. Hatipoğlu, S. Altınok, C Sancak, A. Tan ve D. Uraz. 2005. Yem bitkileri üretimi ve sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi, Bildiriler: 3-7 Ocak 2005, Ankara. 503-518
- Akçelik, E., 2009, Bazı yabancı korunga (*Onobrychis* sp.) türlerinin kromozom sayılarının tespiti ve karyotip analizi. Tarla Bitkileri Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 53 s.
- Akçelik, E., Avcı, S., Uzun, S., ve Sancak, C., 2012, Karyotype analysis of some *Onobrychis* (Sainfoin) species in Turkey. Arch. Boil. Sci., Belgrade, 64: 567-571.
- Aktoklu, E., 1995, Türkiye’de yetişen *Onobrychis* Miller (Fabaceae) türlerinin revizyonu. T.C. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Malatya, 134 s.
- Altın, M., Gökkuş, A. ve Koç, A., 2005, Çayır Mera Islahı. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Yay., Ankara, 40-41.
- Arslan, E., Ertuğrul, K., Tugay, O., Dural, H., 2012, Karyological studies of the genus *Onobrychis* Mill. and the related genera *Hedysarum* L. and *Sartoria* Boiss. & Heldr. (*Fabaceae*, *Hedysareae*) from Turkey. Caryologia 65: 11-17.

- Avcı, S., 2010, Türkiye’de doğal olarak yetişen yabancı korunga (*Onobrychis* sp.) türlerinin toplanması ve morfolojik özelliklerinin belirlenmesi. Tarla Bitkileri Ana Bilim Dalı, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 313 s.
- Avcı, S., Çöçü, S., Sankcak, C., Özcan, S., 2010, *Heliobrychis* seksiyonuna ait bazı korunga (*Onobrychis* sp.) türleri üzerinde morfolojik araştırmalar. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi 19.1-2: 11-16.
- Avcı S., Sancak, C., Can, A., Acar, A. ve Pınar, N.M., 2013, Pollen morphology of the genus *Onobrychis* (*Fabaceae*) in Turkey. Turk J Bot, 37: 669-681.
- Avcı, S., İlhan, E., Erayman, M., Sancak. C., 2014, Analysis of *Onobrychis* genetic diversity using SSR markers from related legume species. J Anim Plant Sci, 24: 556-566.
- Budak, F., 2013, Iğdır İli çayır-mera ve yem bitkilerinin durumu, hayvan beslenmesinde önemi. Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi 6: 49-55.
- Büyükburç, U., Açıkgöz, E., Ekiz, E. Ve Karagüllü, N., 1991, Değişik kökenli kültür ve yabancı korunga türlerinin tarımsal özellikleri üzerinde araştırmalar. Turk J Agric For, 15: 35-45.
- Cartier, D., 1976, Chromosome number reports. In: Löve, A.(ed.), IOPB, LIII. Taxon 25: 492-494.
- Davis, P.H., Cullen, J. and Coode, M.J.E. (ed.), 1988, Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol 10, Edinburg University Pres, 591 p.
- Elçi, Ş., 1982, Sitogenetikte gözlemler ve araştırma yöntemleri. Fırat Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Yayınları, Biyoloji 3, Elazığ, 159 s.
- Elçi, Ş., 2005, Baklagil ve buğdaygil yem bitkileri. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Ankara, 486 s.
- Elçi, S. ve Sancak, C., 2009, Sitogenetikte Araştırma Yöntemleri ve Gözlemler. Ziraat Fakültesi Yayınları: 1576, Ankara, 227 s.
- Elena, T., 2006, Cytological aspects of the *Onobrychis* genus. Buletin USAMV, Romania, 62: 154-158.

- Erkovan, H.İ. ve Tan, M., 2009, Sulu ve kıraç şartlarda yetiştirilen korungada ot ve tohum verimi ile bazı özelliklerin belirlenmesi. *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2.1: 61-71.
- Ghanavati, F., Nematpajoo, N., Khosrow Chahli, M., and Safaei Chaeikar, S., 2012, Cytological evaluation of annual species of the *Onobrychis* genus in Iran. *Crop Breeding Journal* 2: 17-24.
- Gu M. H., Ma, H. T. and Liang, G. H., 1984, Karyotype analysis of seven species in the genus *Sorghum*. *The Journal of Heredity*, 75: 196-202.
- Hedge, I.C. 1970, *Onobrychis* Adans. In: Davis, PH (ed.) *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Edinburgh University Press, Vol. 3: 560–589.
- Hejazi, S.M.H., Nasab, M.Z., 2009, Cytogenetic study on several populations of diploid species of *Onobrychis* in natural gene bank of Iran. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research* 16: 158-171.
- Hejazi, H.S.M., Mahdi, Z.N., 2010, Cytotaxonomy of some *Onobrychis* (*Fabaceae*) species and populations in Iran. *Caryologia* 63: 18-31.
- İspirli, K., Alay, F., Çankaya, N., 2013, Tek Yıllık Çim Hatlarının (*Lolium multiflorum*) Samsun Ekolojik Koşullarında Bazı Tarımsal Özelliklerinin Belirlenmesi. 10. Tarla Bitkileri Kongresi, 10-13 Eylül, Konya, 505-510.
- Kazem, Y., Houshmand, S., Dadane, G.Z., 2010, Karyotype analysis of *Astragalus effusus* Bunge (*Fabaceae*). *Caryologia* 63: 257-261.
- Koç, A., Tan, M., Erkovan, H.I., 2012, An overview of fodder resources and animal production in Turkey. *Options Mediterraneennes A*: 102, 15-22.
- Levan, A., Fredga, K. and Sandberg, A. A., 1964, Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52: 201-222.
- Manga, İ., Acar, Z. ve Ayan, İ., 1995, Baklagil yem bitkileri. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ders Notu No:7*, Samsun, 342 s.
- Martin, E., Duran, A., Dinç, M., Erişen, S. ve Babaoğlu, M., 2008, Karyotype analyses of four *Astragalus* L. (*Fabaceae*) species from Turkey. *Phytologia* 90: 147-159.

- Nazirzadeh, A., Zarifi, E., Mokhtarzadeh, S., Er, C., 2009, *Artemisia* cinsinin iki türünün (*Artemisia fragrans* Willd., *Artemisia absinthium* L.) karyolojik incelenmesi ve karyotip analizi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi 15: 31-37.
- Newton, M. E., 1985, Heterochromatin diversity in two species of *Pellia* (*Hapiticae*) a revealed by C-, Q-, N- and Hoechst 33258- banding. Chromosome, 92: 378-386.
- Ornduff, R., 1968, Index to plant chromosome numbers for 1966. Regnum Veg. 55: 1-126.
- Özdemir, N., 1993, Bitki münavebesinin toprağın strüktürel dayanıklılığı ve erozyona duyarlılığı üzerindeki etkileri. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 24: 66-75.
- Öztürk, M., Martin, E., Dinç, M., Duran, A., Özdemir, A., Çetin, Ö., 2009, A cytogenetical study on some plants taxa in Nizip region (Aksaray, Turkey). Turk J Biol 33: 35-44.
- Plummer, J.A., Shan, F., Galwey, N., Yan, G., 2003, New methods for comparison of chromosomes within and between species. Caryologia, 56: 227-231.
- Polishvaiko, M.N. and Kononenko, A.I., 1974, Comparative study of the pollen of diploid and autotetraploid forms of species of *Onobrychis* L. Cytol Genet, 8: 32-35.
- Ranjbar, M., Karamian, R., and Hadadi, A., 2009, Biosystematic study of *Onobrychis viifolia* Scop. and *Onobrychis altissima* Grossh. (*Fabaceae*) in Iran. Iran J. Botany, 15: 85-95.
- Sepet, H., Emre, İ., Kıran, Y., Kürşat, M. And Şahin, A., 2011, Karyological studies on eight species of *Onobrychis* genus in Turkey. Biologia 66: 996-1002.
- Serin, Y. ve Tan, M., 2001, Baklagil yem bitkileri. Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ders Yayınları No:190, Erzurum 177 s.
- Sharma, P.C. and Gupta P.K., 1982, Karyotype in some pulse crops. The Nucleus, 25: 181-185.
- Soya. H., Avcıoğlu. R., Green. H., 2004, Yem Bitkileri. Hasad Yayıncılık, 204-208.

- Stebbins, G. L., 1971, Chromosomal evolution in higher plants. Edward Arnold Ltd., London, 85-89.
- TÜİK, 2012, Bitkisel Üretim İstatistikleri, Türkiye İstatistik Kurumu, Ankara.
- Türk, M., 2005, Farklı ekim sıklıklarının korunga (*Onobrychis sativa* L.) kuru ot ve ham protein verimi üzerine etkisi. Tarım Bilimleri Dergisi, 11: 292-298.
- Tosun, F., Altın, M., Akten, Ş., Akaya, A., Serin, Y., Çelik, N., Kantar, F., and Çağlar, Ö., 1996, Wheat yields in relation to cropping systems under rainfed conditions in Eastern Anatolia. Aspects of Applied Biology, 47: 371-374.
- Tosun, F., 1996, Türkiye’de kaba yem üretiminde Çayır-mera ve yem bitkileri yetiştiriciliğinin dünü, bugünü ve yarını. Türkiye 3. Çayır-Mera ve Yem Bitkileri Kongresi, 17-19 Haziran, Erzurum, 1-15.
- Yıldırım, B., 2007, Bazı *Lathyrus* L. türlerinin karyolojik özellikleri. Süleyman Demirel Üniversitesi, Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, 55 s.
- Yüksek, T., Sarıyıldız, T., Tüfekçioğlu, A. ve Kalay, H. Z., 2002, Korunga (*Onobrychis viciifolia* Scop.) bitkisinin Gümüşhane Tarım ve Hayvancılığı açısından irdelenmesi. Gümüşhane ve Yöresinin Kalkınması Sempozyumu, Bildiriler Kitabı, 23-25 Ekim, Gümüşhane, 616-626.
- Zarifi, I., 2004, Cytogenetical analysis of some species of sainfoin genus (*Onobrychis* sp.) in East Azerbaijan province. University of Tabriz, Master Thesis, İran.
- Zarifi, E., 2009, *Artemisia* cinsinin iki türünün (*Artemisia fragrans* Willd., *Artemisia absinthium* L.) karyolojik incelenmesi ve karyotip analizi. Tarım Bilimleri Dergisi, 15: 31-37.