



Available at: <https://dergipark.org.tr/tjws>

**Turkish Journal of Weed Science**

© Turkish Weed Science Society



*Araştırma Makale / Research Article*

## **Buğday Alanlarında Sorun Olan *Alopecurus myosuroides* Huds.'un Morfolojik ve Genetik Çeşitliliğinin Belirlenmesi**

**Dilan BOYLU<sup>1</sup>, Emine KAYA ALTOP<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, SAMSUN

\* **Sorumlu yazar** : [kayae@omu.edu.tr](mailto:kayae@omu.edu.tr)

### **ÖZET**

*Alopecurus myosuroides* buğday ekim alanlarında sorun olan önemli bir monokotiledon yabancı ottur. Türün kimyasal mücadelesinde yaşanan etki kaybı nedeniyle gündeme gelen şikayetler baz alınarak varyasyon çalışmalarına yön verilmiştir. Güncel bilgiler ışığında yabancı otlar için taksonomik veri sağlama ve genetik çeşitlilik çalışmalarının sağlam temellere oturtulmasında sadece morfolojik verilerle güvenilir sonuçlara ulaşmak mümkün değildir. Morfolojik verilerin moleküler analizler neticesinde elde edilen veriler ile de desteklenmesi gerekmektedir. Bu bilgiden yola çıkarak seçilen 40 populasyon üzerinden morfolojik ve genetik çeşitlilik çalışmaları yürütülmüştür. Bu çalışmada buğday ekim alanlarından toplanan *A. myosuroides* populasyonlarından mesosulfuron-methyl+iodosulfuron-methyl-sodium'a karşı dayanıklı ve duyarlı populasyonları genetik varyasyon ve morfolojik farklılıklarına göre karşılaştırılmak suretiyle herbisit dayanıklılığının varyasyon olgusuna etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Morfolojik farklılığı saptamak için sera koşullarında her populasyondan seçilen beş tohum saksılarda çimlendirilmiştir. Morfolojik parametreler olarak kardeş sayısı (adet), çimlenme hızı (gün), tohum bağlama zamanı (gün), bitki boyu (cm), başak uzunluğu (cm), yaprak alanı (cm<sup>2</sup>), bayrak yaprak alanı (cm<sup>2</sup>), bin dane ağırlığı (g), yaş aksam ağırlık (g), yaş kök ağırlık (g), kuru aksam ağırlık (g), kuru kök ağırlık (g) ölçülmüştür. Hiyerarşik kümeleme analizine tabi tutulan parametre verileri populasyonlar arasında belirgin farklılığı göstermiştir. *A. myosuroides* populasyonları SSR allellerinden elde edilen sonuca göre iki ana grupta toplanmıştır. Allel sayıları lokus başına bir ile dört arasında, H' değerleri ise 0.25 ile 0.95 arasında değişmiştir. Genetik uzaklık değerleri incelendiğinde populasyonlar genetik olarak birbirlerinden farklı bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Tilki kuyruğu, yabancı ot, morfolojik çeşitlilik, genetik çeşitlilik, SSR

## **Determination of Morphological and Genetic Diversity of *Alopecurus myosuroides* Huds. in Wheat**

### **ABSTRACT**

*Alopecurus myosuroides* is an important grassy weed that causes a problem in wheat cultivation areas. Variation studies were conducted based on the complaints due to the loss of effectiveness during the chemical control of the species. According to the current information, it is impossible to reach reliable results with only morphological data in providing taxonomic data for weeds and establishing genetic diversity studies on concrete framework. Morphological data should also be supported by data obtained from molecular analyzes. Based on this information, morphological and genetic diversity studies were carried out on 40 selected populations. This study aimed to determine the effect of herbicide resistance on the variation by comparing resistant and sensitive *A. myosuroides* populations collected from forty-two different locations from wheat cultivation areas according to genetic variation and morphological differences to mesosulfuron-methyl+iodosulfuron-methyl-sodium. Five seeds were selected from each population to germinate in pots under greenhouse conditions to determine the morphological difference. As morphological parameters, the number of siblings (number), germination rate (days), seed setting time (days), plant height (cm), spike length (cm), leaf area (cm<sup>2</sup>), flag leaf area (cm<sup>2</sup>), thousand-grain weight (g), wet root weight (g), wet root weight (g), dry part weight (g), dry root weight (g) were measured. The data were showed significant differences between populations in terms of hierarchical cluster analysis. *A. myosuroides* populations were clustered into two main groups based on the SSR alleles. Allele numbers and the H' value (Shannon's information index) for SSR phenotypes ranged from one to four per locus and 0.25 to 0.95, respectively. The populations were found to be genetically different from each other according to the genetic distance values.

**Keywords:** Blackgrass, weed, morphological differences, genetic diversity, SSR

\*Bu çalışma yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

## GİRİŞ

Gerek dünyada gerekse ülkemizde başlıca gıda maddelerinden olmakla birlikte, ülke ekonomisinde yeri çok yüksek olan buğdayda birim alandan yüksek verim alınabilmesinde için birçok faktör etkili olmaktadır. Çevre olarak buğday tarımının yapıldığı arazi, toprak yapısı, yıllık yağış miktarı ve sıcaklık; çeşit olarak ekilen buğday tohumunun genetik olarak verim potansiyeli; bitki koruma ve yetiştirme teknikleri olarak toprak hazırlığı, tohum miktarı, gübreleme, yabancı otlar, hastalıklar ve zararlılar buğday verimini ciddi anlamda etkiledikleri için sorun teşkil etmektedir. Bu sorunlar içerisinde bitki koruma açısından yabancı otlar ön planda gelmektedir. Yabancı otların rekabet güçleri genellikle yüksek olduğundan, tahıl bitkileri zayıf kalmakta ve verimi düşmektedir. Yabancı ot rekabeti nedeniyle hububatın ürün kaybı dünyada ortalama olarak %20-40 arasında değişmektedir (Güncan, 2010). Bir bitkinin değişik kimyasal gruptan herbisitlere sahip olduğu genetik özellikler sayesinde karşı koyabilme yeteneği olarak tanımlanan herbisitlere dayanıklılık olayı, dayanıklı bitkilerin ekolojik uyumu, populasyon dinamiği ve dayanıklılığın gelişimi gibi bazı sorunları da beraberinde getirmektedir. Bir yabancı otun ekolojik uyumu, o türün yaşam dönemi boyunca ortama adapte olma yeteneğidir. Bir bitkinin büyümesi, gelişmesi ve çoğalması için çeşitli kaynaklardan pay alma kabiliyetine bağlıdır (Holt, 1990). Dayanıklılığın gelişmesi dayanıklı biyotiplerin ekolojik uyumu ile yakından bağlantılı olduğu için dayanıklılık olayının tahmini oldukça zorlaşmaktadır. Bu nedenle dayanıklı ve duyarlı populasyonların ekolojik uyumu ile ilgili bilgiler dayanıklılığın tahmini için gereklidir.

Herbisitlere dayanıklı ve duyarlı yabancı otların ekolojik uyumunun incelenmesi sonucunda elde edilen bilgiler entegre mücadele kapsamında önemli bir veri tabanı oluşturmakta ve bu veriler sayesinde dayanıklılığın erken tahmini sağlanabilmektedir (Maxwell ve ark., 1990; Gressel ve Segel, 1982). Puri ve ark., (2007) tarafından yapılan bir derlemede, araştırma sonuçları herbisitlere dayanıklı populasyonların ekolojik uyumunda duyarlılara göre bir düşüşün olduğunu bildirmişlerdir. ALS inhibitörü herbisitlere dayanıklı *Amaranthus retroflexus* ile triazine ve ALS inhibitörü herbisitlere çoklu dayanıklılık gösteren *A. blitoides* 9 türlerinin ekolojik uyumunun araştırıldığı bir çalışmada; her iki türün ALS inhibitörü herbisitlere dayanıklılık özelliğinin bitkinin gelişim özellikleri ile ilişkili olmadığı kanısına varılmıştır. Buna karşın çoklu dayanıklılık gösteren *A. blitoides* biyotiplerinin duyarlı biyotiplere göre daha az ekolojik uyum gösterdiği tespit edilmiştir. Burada herbisit kullanılmadığı koşullarda dayanıklı

populasyonların rekabet sonucunda zamanla ortadan kalkacağı kanısına varılmıştır (Sibony ve Rubin, 2003).

ALS inhibitörü herbisitlere dayanıklı *Bromus tectorum* biyotiplerinin rekabet yeteneği ve ekolojik uyumu duyarlılara göre daha az fakat dayanıklıların daha büyük tohum ürettiği bildirilmektedir (Vila-Aiub ve ark., 2005). Diğer bir çalışmada *B. tectorum*'un ALS inhibitörü herbisitlere dayanıklı biyotiplerinde, duyarlılara göre daha az biomas ve tane oluşumu ve yaprak alanı bulunmuştur. Bu çalışmada rekabet ortamında dayanıklı biyotiplerin duyarlılara göre daha zayıf bir rekabet gücüne sahip olduklarından bahsedilmiştir (Park ve Smith, 2004).

Monokültür bir alanda yetiştirilen *Conyza canadensis*'in glyphosate dayanıklı biyotipleri, duyarlılara göre daha hızlı gelişmiş ve daha erken çiçeklenme ve tane bağlama aşamalarını tamamlamıştır. Bu çalışmada dayanıklı biyotipler 25 gün daha erken tane bağlama aşamasını tamamlamıştır. Ancak aynı fenolojik aşamada daha yavaş ve geç gelişen duyarlı biyotiplerin toprak üstü organlarının kuru ağırlığı dayanıklı olanlardan %40 fazla olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada rekabet ortamında, dayanıklı populasyonların bireylerinin hem boyları daha uzun, hem de kuru madde birikimi fazla bulunmuştur. Rekabet ortamında, su ve mineral maddelerin sınırlı olduğu koşullarda dayanıklı biyotiplerin duyarlılara göre daha üstün bir rekabet gücüne sahip olduğu da ifade edilmiştir (Shrestha ve ark., 2010).

Gressel ve Segel (1982), tohum canlılığı ve dormansinin önemini dayanıklı ve duyarlı yabancı otlarının populasyon dinamiğinde vurgulamıştır. Dayanıklı ve duyarlı populasyonlar arasında dormansi açısından ortaya çıkan farklılıklar bu biyotiplerin populasyon dinamiği, toprakta canlı kalma süresi ve dolayısıyla yönetim stratejilerini etkilediğini bildirmişlerdir.

*Alopecurus myosuroides* buğday tarlalarında ve hasat edilen üründe sorun olan önemli yabancı otlardan biridir (Pala ve Mennan 2017; Pala ve ark., 2018). Birçok yabancı ot türünde olduğu gibi *A. myosuroides* de yetiştirdiği alana bağlı olarak çoğalma özellikleri ve morfolojik özelliklerinden dolayı yüksek oranda genetik farklılıklar göstermektedir (Menchari ve ark., 2007; Michishita ve Yamaguchi, 2003; Yabuno, 2001). Bir türün genotipleri arasında çeşitli morfolojik, anatomik, fizyolojik, biyokimyasal ve davranış özellikleri bakımından farklılıklar bulunmaktadır.

Populasyonlar arasındaki farklılıklar, bir genin farklı allellerinden ve bu allellerin populasyonlar arasında farklı frekans dağılımlarından ileri gelmektedir. Bir tür içindeki genetik farklılıkların tümüne genetik çeşitlilik denilmektedir. Biyolojik çeşitliliğin bileşenlerinden biri

olan genetik çeşitliliğin belirlenmesi, ekosistemlerin sağlıklı ve verimli olması, sürdürülebilir kullanımı için en önemli şartlardan biridir. Tür içi genetik çeşitliliğin yüksekliği, değişen çevre şartlarına uyum açısından bir güvencedir. Genetik çeşitliliği yüksek olan türler ve ırklar, zamana ve yere göre değişen çevre koşullarına daha başarılı uyum yapma yeteneğine sahiptir (Işık, 1997). Bu bağlamda değerlendirildiğinde genetik çeşitliliğin yüksekliği herbisitlere dayanıklılık olgusu için tetikleyici bir rol oynamakta aynı zamanda dayanıklı popülasyonların adaptasyon yeteneklerinin artışı desteklemektedir (Kaya, 2008).

Genetik varyasyon çalışmaları yalnızca evrimsel bir bağlam içinde değerlendirilmekle kalmaz ve aynı zamanda eradikasyon ve yabancı ot kontrolünde de araştırmaların önemli bir parçası olarak yardımcı olur (Ching, 2002; Sun, 1997). Çok hızlı yayılım gösteren türlerin genetik çeşitliliğin bilinmesi ile bu bitkilerin coğrafi orijini saptanabilmekte (Meekins ve ark., 2001), bu bilgiler ışığında biyolojik mücadelede kullanılan ajanların seçilmesi mümkün olabilmektedir (Nissen ve ark., 1995). Dayanıklılık geliştirmiş türlere karşı uygulanacak biyolojik mücadele ajanlarının belirlenmesi için genetik varyasyonun saptanması gerekmektedir. Genetik çeşitlilik gösteren popülasyonlar kontrol ajanlarına karşı daha yüksek oranda dayanıklılık geliştirebilmekte ve mücadele olanaklarını zorlaştırmaktadırlar (Agarwal ve ark., 2008; Meekins ve ark., 2001).

Günümüzde, moleküler tekniklerin gelişmesiyle birlikte, yabancı ot genotiplerinin genetik çeşitliliği üzerinde yapılan çalışmalar yabancı ot biliminde yeni açılımlara imkân tanımıştır (Ye ve ark., 2004). Bireyin fenotipik ve/veya genotipik özelliklerini saptayan işaretler marker olarak tanımlanmakta olup, bir popülasyon içinde birden fazla gen veya fenotipik özellik varsa, o genotipin polimorfik olduğu söylenebilmekte, polimorfizm oranı markerlerle belirlenebilmektedir. İdeal bir marker; polimorfik, tekrarlanabilir, kodominant ve genom boyunca düzenli dağılıma sahip olmalı, çevresel etkilere maruz kalmamalı, nötr ve ekonomik olmalıdır (De Vicente ve Fulton, 2004). Markerler; fenotipik, biyokimyasal ve moleküler markerler olmak üzere üç gruba ayrılmaktadırlar (Kaya, 2008).

Basit dizi tekrarları (SSR-Simple Sequence Repeats) olarak bilinen mikrosatellitler, DNA dizilerinde tekrar

edilen en küçük birimleridir ve tekrar motifleri 1–6 bp arasında değişmektedir. Mikrosatellitleri çevreleyen bölgelerin dizileri (flanking region) biliniyorsa o bölgelere uygun primerler tasarlanarak (genelde 20–25 bp uzunluğunda) PCR ile çoğaltımı yapılabilmektedir. Bunun yanında, akraba türler arası SSR primerleri farklı canlılarda kullanılabilir. DNA replikasyonu sırasında meydana gelen dizi atlama, yanlış baz eşleşmeleri ve eşit olmayan crossing-over olayları mikrosatellit sayılarının farklılığına neden olan temel olaylardır ve jel elektroforeziyle belirlenmektedir (Matsuoka ve ark., 2002). Mikrosatellit markerler, az DNA gerektirmesi, kodominant ve kararlı marker sistem olması, genomda bol ve dağınık bulunması, tekrarlanabilir ve otomasyona uygun olması, yüksek polimorfizm barındırması, bilgilendirici bir marker sistemi oluşundan dolayı popülasyon genetiği ve gen haritalama çalışmalarında etkin olarak kullanılabilir (Filiz ve Koç, 2011; Powell ve ark., 1996).

Tüm bu bilgiler ışığında *A. myosuroides* %98 kendine döllen, %2 yabancı döllen bir tür olmasına karşın bu %2 yabancı döllenme bu türü genetik olarak farklılaşmasına neden olabilmektedir. Bu nedenle de dayanıklılığın artışında etkin rol oynadığı düşünülmektedir. Tüm bu farklılıkların belirlenmesi amacı ile bu çalışmada PCR temelli marker tekniklerinden Mikrosatellit (SSR-Simple Sequence Repeats) yöntemi kullanılarak *A. myosuroides*' in dayanıklılık durumunun, genetik ve morfolojik çeşitliliğinin belirlenmesi ve mücadeleye yönelik stratejilerin oluşturulmasına katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### *Popülasyonların Örneklenmesi ve Yetiştirilmesi*

*A. myosuroides* popülasyonlarına ait örneklemeler Samsun, Amasya, Ankara, Tokat ve Çorum illerine ait buğday ekim alanlarından 40 farklı lokasyonda gerçekleştirilmiştir (Çizelge 1). Aynı ile ait lokasyonlardan örnek alınırken lokasyonlar arasındaki mesafenin en az 5-10 km olmasına özen gösterilmiştir (Barret, 1982).

Çizelge 1. Örneklenen genotiplere ait coğrafik bilgiler

Örnek No	İl	İlçe	Populasyon	Koordinat		
1	Amasya	Göynücek	AMS-5	40° 46. 417'	35° 39. 401'	
2		Merkez	AMS-2	40° 41. 387'	35° 46. 590'	
3		Suluova	AMS-6	40° 46. 310'	35° 39. 399'	
4			AMS-4	40° 46. 310'	35° 39. 399'	
5		Taşova	AMS-7	40° 49. 277'	35° 34. 140'	
6			AMS-10	40° 41. 915'	35° 47. 126'	
7			AMS-8	40° 45. 384'	36° 20. 098'	
8			AMS-9	40° 41. 469'	35° 46. 619'	
9	Ankara	Haymana	Hymn-12	39° 28. 171'	32° 43. 110'	
10	Çorum	Alaca	ÇOR-1	40° 11. 515'	34° 49. 175'	
11		Merkez	ÇOR-4	40° 38. 230'	34° 52. 370'	
12		Sungurlu	ÇOR-5	40° 27. 420'	34° 46. 220'	
13	Samsun	Alaçam	SAM-19	41° 36. 162'	35° 36. 326'	
14			SAM-20	41° 36. 166'	35° 39. 330'	
15			SAM-5	41° 36. 162'	35° 36. 326'	
16			SAM-7	41° 36. 096'	35° 36. 321'	
17		Atakum	SAM-10	41° 19. 710'	36° 03. 055'	
18			SAM-11	41° 19. 710'	36° 03. 055'	
19			SAM-26	41° 19. 710'	36° 03. 055'	
20			SAM-9	41° 19. 827'	36° 03. 072'	
21		Bafra	SAM-17	41° 34. 543'	35° 53. 319'	
22			SAM-18	41° 32. 470'	35° 53. 712'	
23			SAM-3	41° 35. 283'	35° 54. 248'	
24			SAM-4	41° 33. 626'	35° 54. 238'	
25		Çarşamba	SAM-22	41° 19. 302'	36° 03. 125'	
26			SAM-23	41° 12. 007'	36° 45. 043'	
27		Havza	SAM-14	40° 58. 386'	35° 39. 366'	
28			SAM-15	40° 64. 831'	35° 39. 574'	
29			SAM-16	40° 58. 386'	35° 39. 366'	
30			SAM-29	40° 58. 386'	35° 39. 366'	
31		Kavak	SAM-35	40° 58. 555'	35° 40. 501'	
32			SAM-12	41° 09. 447'	36° 05. 092'	
33			SAM-13	41° 09. 786'	36° 05. 084'	
34		Ondokuzmayıs	SAM-21	41° 30. 175'	36° 04. 980'	
35			SAM-24	41° 30. 173'	36° 04. 981'	
36			SAM-8	41° 30. 471'	36° 04. 941'	
37		Vezirköprü	SAM-1	41° 61. 512'	35° 32. 154'	
38			SAM-2	41° 56. 067'	35° 30. 896'	
39			SAM-27	41° 60. 754'	35° 32. 221'	
40		Tokat	Merkez	TKT-1	42° 17. 490'	34° 25. 175'

Ön çimlendirme işlemi için her bir populasyona ait *A. myosuroides* tohumları 9 cm çapında içerisinde çift kat nemlendirilmiş kurutma kâğıdı bulunan petrilere konularak +22 °C'de 12/14 ışıklandırma periyodundaki inkübatöre yerleştirilmiştir. Çimlenen populasyonlar kontrollü koşullardaki serada steril toprak içerisinde şartılarak büyümesi sağlanmıştır.

#### Genetik çeşitlilik çalışmaları

#### DNA Ekstraksiyonu

Ekstraksiyon için sera koşullarında yetiştirilen bitkiler 4-6 yapraklı dönemde geldiğinde yaprak örneklerinden genomik DNA'lar DNeasy DNA ekstraksiyon kiti

(Qiagen, Almanya) kullanılarak, kit protokolüne göre ekstrakte edilmiştir. Genomik DNA ekstraksiyonu 100 mg taze yaprak dokusundan gerçekleştirilmiştir. Uygulanan DNA protokolünün ardından elde edilen DNA'lar SSR-PCR uygulamasına kadar -80 °C' de muhafaza edilmiştir.

#### PCR Uygulaması

SSR moleküler marker testinin yapıldığı PCR uygulaması 25 µL toplam hacimde gerçekleştirilmiştir. SSR-PCR reaksiyon karışımı; 2 µl (1.0 ng/µL-1) Genomik DNA, her bir forward ve revers primerlerden (Çizelge 2) 3 µl (25 ng), 0.5 µl 10 mM dNTP, 0.2 µl Taq DNA Pol., 2.5 µl 10XPCR buffer, 13.7 µl sdH<sub>2</sub>O. PCR

için uygulanacak sıcaklık değerleri ve süreleri şu şekilde oluşturulmuştur:(1) 94 °C→ 3 dk. (İlk denaturasyon), 35 döngü olacak şekilde (2) 94 °C→ 1 dk. (DNA sarmallarının birbirinden ayrılması), (3) 38 °C→ 1 dk. (Primerin sarmallara yapışması),(4) 72 °C→1 dk. (Sarmalın tamamlanması) ve (5) 72 °C→ 10 dk. (Son inkübasyon) olarak gerçekleştirilmiştir. PCR sonrası oluşan DNA parçalarının analizi için % 3.5'lük agaroz jel için 1

x TBE tamponu (100 mM Tris, 100 mM borik asit, 2 mM EDTA, pH 8.3), 2 g agaroz (Serva Agarose) (Serva, Almanya), 1.5 g micropor agaroz (Nusseive GTG Agarose) (Combrex, USA) kullanılarak yatay tipteki maxi elektroforez cihazında (BioRad) yürütülmüştür. 1Kb'lik DNA marker (New England Biolabs®UK) referanslığında elde edilen bantların jel görüntüleme cihazı (Vilberlurm) yardımıyla fotoğrafları çekilmiştir.

**Çizelge 2.** Çalışmada kullanılan SSR primerleri

Locus	Repeat motif	Primer sequence (5'-3')	Tm (°C)
Loc01	(GAG)6	F: GGGGATTTCTGATTCCGACT R: ATTACTGGTCAGACGGAAAC	55
Loc02	(CGC)6	F:GGCTCCAAACAAGGCAATTC R: TTCAGGGAATTTAGTACAAG	55
Loc03	(TGC)6	F: GAAAGGAAATGGGTTGGCTG R: CTTCGCACCATGATCTTCTC	55
Loc04	(TAC)13	F: AGTAGAAGGCTGCAAGAAGG R: TCTCAGCCCACTTTGTATAG	55
Loc05	(GCT)6	F: CAGAGCCTTCAATCATGGTG R: TGCTTCAAGTTCTAGGAGAC	55

### ***Bantların değerlendirilmesi***

SSR tekniği populasyonlar arasındaki farklılığı tespit etmek için kullanılmaktadır. SSR bantlarının belirlenmesi ise elektroforez sonrası incelenen jelde bandın görülmesi ya da görülmemesi esasına dayanmaktadır.

Bu çalışmada optimal PCR şartları amplifikasyonların birkaç kez tekrar edilmesi ile oluşturulmuş ve her bir primere ait stabil bant profili veren koşullar seçilmiştir. Fenogramın elde edilmesi için jellerdeki monomorfik ve polimorfik bantlar tespit edilmiştir.

### ***Morfolojik çeşitlilik çalışmaları***

Çalışma elek ev koşullarında olmak üzere daha önce belirtildiği üzere farklı illerden toplanmış olan dayanıklı ve duyarlı biotiplerin (Boylu, 2017) ekolojik uyumlarının saptanması amacıyla evde tesadüf bloklar deneme desenine göre 4 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Denemede ele alınan populasyon sayısı tüm illeri kapsayacak şekilde en az 40 adet olmuştur. Denemede 5 kg'lık toprak alabilme kapasitesine sahip saksılara denemenin ilk kurulduğunda her saksıya 10 tohum ekimi yapılmıştır. Saksı başına en erken çimlenme gösteren 5 bitki etiketlenip, diğerlerinin seyreltilmesi şeklinde gerçekleştirilecek olan yetiştirme işleminde, bitkilerin tohumdan tohuma biyolojik evreleri takip edilerek ve morfolojik parametre verileri alınmıştır. İncelenmiş olan morfolojik parametreler kardeş sayısı (adet), çimlenme hızı (gün), tohum bağlama zamanı (gün), bitki boyu (cm),

başak uzunluğu (cm), yaprak alanı (cm<sup>2</sup>), bayrak yaprak alanı (cm<sup>2</sup>), bin dane ağırlığı (g), yaş aksam ağırlık (g), yaş kök ağırlık (g), kuru aksam ağırlık (g), kuru kök ağırlık (g) şeklinde olmuştur. Çıkış hızı parametresi tohum ekiminin ardından sabah ve öğleden sonra olmak üzere günlük iki kez yapılan gözlemlerle takip edilmiştir. Her saksıdaki beş bitki için ayrı ayrı olmak koşuluyla çimlenmeye başlayan bitkilerde haftalık periyotlarla bitki boy ölçümleri alınmıştır. Tohum bağlama zamanı günlük 2 kez yapılan gözlemlerle saptanmış olup, yaprak alan ölçeri (LI-COR/LI-3000 C portable area meter) ile yapılan bayrak yaprak ölçümleri tamamlanmıştır. Hasat işlemi sonunda hasat edilen bitkiler ayrı ayrı olacak şekilde kâğıt torbalar içerisine konularak laboratuvar ortamına getirilip bin dane ağırlıkları ölçülmüş ve yaş ağırlıkları alınmıştır. Örneklerin toprak altı ve üstü kuru ağırlıklarının ölçülmesi amacıyla 70 °C' de 3 günlük kurutma periyodunun ardından bakılmak istenen parametrelere ait veriler sağlanmıştır.

### ***İstatistiksel analizler***

Morfolojik çalışmalar neticesinde elde edilen veriler SPSS 20.0 (for Windows) (Alttop ve Mennan, 2011) istatistiksel paket programında hiyerarşik kümeleme analizi (hierarchical cluster analysis)'ne tabi tutularak incelenecek özellikler arasındaki benzerlik-farklılık ilişkilerini ortaya koymak amacı ile dendogramları

oluşturulmuştur. Ayrıca bu özelliklerin populasyonda göstermiş olduğu varyasyonu istatistiki olarak önemli bir bilgi kaybı olmaksızın daha az değişken (özellik) ile izah edilip edilemeyeceğini belirlemek amacı ile Temel bileşenler analizi (PCA) (principal component analysis) yapılmıştır.

Moleküler çalışmalar için ilk aşamada jelden elde edilen bant görüntüleri marker büyüklükleri referans alınarak değerlendirilmiştir. Bu analizin uygulanmasında SPSS 20.0 (for Windows) bilgisayar programı kullanılmıştır. Polimorfik olan bantların bant büyüklükleri bilgisayara var (1) ya da yok (0) şeklinde girilmiştir. Böylece daha sonraki aşamalarda kullanılacak olan bant matrisleri oluşturulmuştur. En son aşamada ise SAHN (sequential, agglomerative, hierarchical, and nested clustering) kümeleme alt programı ve bu program içinde benzerlik matrislerini temel alan UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean) (Jaccard'a göre) algoritması kullanılarak çeşitlere ait dendogramlar çizilmiştir.

## BULGULAR ve TARTIŞMA

### *A. myosuroides'in morfolojik ve genetik çeşitliliklerinin belirlenmesi*

*A. myosuroides'in morfolojik bulguları* Farklı coğrafik lokasyonlardan toplanan dayanıklı ve hassas 40 *A. myosuroides* populasyonunda on iki farklı morfolojik parametre verileri kullanılmak suretiyle istatistiki

analizler gerçekleştirilmiştir. Elde edilen varyasyon bulgularına göre dayanıklı populasyonlarda çimlenme hızı hassaslara oranla yaklaşık 2 gün, tohum bağlama zamanı ise 10 gün geç seyretmektedir. Ortalama değerler baz alındığında bitki boyu, başak uzunluğu ile yaş ve kuru aksam ağırlıklarının dayanıklı populasyonlarda daha yüksek bulunmuştur. Diğer parametrelerde (KS, BYA, YA, BDA, YKA ve KKA) hassas populasyon verilerinin nispeten daha fazla olduğu fakat bu artışların küçük farklılıklar içerdiği dikkat çekmiştir (Çizelge 3-4).

Dayanıklı *A. myosuroides* populasyonlarının morfolojik parametrelerine ait korelasyon matrisinde kuru aksam ağırlığı ile yaş aksam ağırlığı ve kardeş sayısı ile yaş aksam ağırlığı arasında istatistiki olarak çok önemli ve olumlu ilişkiler tespit edilmiştir. Kuru kök ağırlığı ile yaş kök ağırlığı arasında da olumlu ve çok önemli ilişkiler saptanmıştır. Tohum bağlama zamanı ile kardeş sayısı arasındaki ilişki olumlu fakat önemsiz olarak kaydedilmiştir (Çizelge 5). Hassas populasyonların korelasyon analizi neticesinde, kuru aksam ağırlığı ile yaş aksam ağırlığı, bin dane ağırlığı ile tohum bağlama zamanı ve başak uzunluğu ile tohum bağlama zamanı arasında istatistiki olarak çok önemli ve olumlu ilişkiler tespit edilmiştir. Kuru kök ağırlığı ile yaş kök ağırlığı arasında da olumlu ve çok önemli ilişkiler saptanmıştır. Kuru kök ağırlığı ile çimlenme hızı arasındaki ilişki olumlu fakat önemsiz olarak kaydedilmiştir (Çizelge 6).

**Çizelge 3.** Dayanıklı *A. myosuroides* populasyonlarının elde edilen morfolojik parametreleri ve populasyonlar arasındaki farklılıklar.

Pop. No	ÇH	TBZ	KS	BB	BU	BYA	YA	BDA	YAA	YKA	KA	KKA
1	9.00*	172.00*	6.50 c	69.70 e	7.48 bc	3.68 a-d	4.25 de	1.40 d	70.60 f	10.34 g	19.89*	2.72*
2	10.00*	160.00*	8.50 ab	77.93 de	8.98 abc	4.93 ab	8.78 ab	1.70 c	66.80 g	23.46 c	18.46*	6.06*
3	11.00*	166.00*	5.50 d	73.23 e	9.75 a	3.30 bcd	8.40 ab	1.12 h	61.39 h	11.52 f	17.09*	2.72*
4	10.00*	160.00*	5.50 d	102.75 b	8.75 abc	3.73 a-d	7.80 bc	1.22 g	55.64 j	5.85 i	18.44*	3.78*
5	11.00*	160.00*	7.00 c	72.40 e	4.75 d	1.25 e	3.13 e	1.04 i	97.46 c	21.49 d	37.85*	4.31*
6	11.00*	174.00*	8.00 b	51.50 f	7.25 bc	3.08 cd	5.23 cde	2.00 b	90.98 d	16.14 e	22.11*	3.93*
7	10.00*	166.00**	5.50 d	87.55 cd	9.08 ab	2.75 d	6.33 bd	1.24 f	41.87 k	5.17 k	18.05*	1.74*
8	12.00*	174.00*	8.00 b	85.80 cd	7.45 bc	2.85 d	10.90 a	1.40 d	109.16 a	46.32 a	38.40*	15.03*
9	8.00*	150.00*	9.00 a	91.50 c	10.18 a	5.23 a	8.68 ab	2.00 b	105.92 b	8.39 h	41.22*	2.34*
10	9.00*	157.00*	4.00 e	113.63 a	10.05 a	4.60 abc	6.13 bcd	2.30 a	56.75 i	5.60 j	20.77*	1.43*
11	10.00*	166.00*	7.00 c	73.10 e	6.90 c	3.25 bcd	8.60 ab	1.30 e	87.22 e	28.26 b	25.76*	8.12*
<b>Ort.</b>	<b>10.09</b>	<b>164.09</b>	<b>6.77</b>	<b>81.73</b>	<b>8.24</b>	<b>3.51</b>	<b>7.11</b>	<b>1.52</b>	<b>76.71</b>	<b>16.59</b>	<b>25.28</b>	<b>4.74</b>

\*varyasyon saptanmamıştır.

Aynı harfle gösterilen uygulamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre  $P < 0,05$  seviyesinde fark yoktur.

**Cizelge 4.** Hassas *A. myosuroides* populasyonlarının elde edilen morfolojik parametreleri ve populasyonlar arasındaki farklılıklar.

Pop. No	ÇH	TBZ	KS	BB	BU	BYA	YA	BDA	YAA	YKA	KA	KKA
1	8.00*	166.00*	9.00 d	99.00 bc	10.20 cde	9.25 a	12.98 a	1.00 y	88.07 ı	19.76 g	28.11 g	5.35 f
2	7.00*	172.00*	5.50 hij	86.25 efg	7.73 f-l	3.20 c-f	6.70 d-h	1.40 p	59.43 s	13.12 n	16.49 s	3.00 r
3	6.00*	157.00*	5.50 hij	80.25 f-j	8.30 f-k	4.55 b-e	4.83 hı	1.40 p	41.32 x	8.51 u	12.28 x	1.96 ş
4	7.00*	172.00*	5.00 i-l	88.60 df	8.73 e-h	5.05 bc	8.10 b-g	1.30 t	115.91 c	18.87 h	50.98 a	6.84 e
5	9.00*	174.00*	6.50 fgh	47.28 n	6.68 j-m	3.45 c-f	9.63 bcd	2.20 d	64.18 ö	7.00 ü	17.78 o	1.66 u
6	7.00*	0.00*	12.00 a	39.80 no	0.00 n	0.00 g	8.78 b-e	0.00 z	75.51 i	16.76 i	17.61 ö	3.44 n
7	8.00*	166.00*	8.00 e	95.00 cd	10.85 bcd	5.00 bc	9.20 bcd	1.72 m	63.57 p	13.07 o	17.36 p	4.18 j
8	8.00*	150.00*	6.50 fgh	100.03 bc	11.98 fgh	3.35 c-f	7.93 b-h	1.28 u	70.00 l	13.02 ö	24.72 h	3.64 m
9	8.00*	172.00*	5.00 ij	76.05 hij	8.40 e-k	2.38 def	5.85 e-ı	1.90 ı	41.64 w	4.63 w	13.52 v	1.52 v
10	8.00*	160.00*	5.00 ij	59.70 lm	7.40 g-m	5.03 bc	8.68 b-f	2.20 d	46.06 v	4.16 x	13.07 w	1.09 w
11	9.00*	174.00*	10.00 c	57.00 m	8.53 d-ı	3.48 c-f	9.75 bcd	2.02 g	141.07 a	45.97 b	37.33 ç	11.06 b
12	7.00*	166.00*	6.00 ghı	114.80 a	9.23 d-g	4.70 bcd	7.40 b-h	1.92 h	99.79 e	6.58 v	23.99 ı	1.55 ü
13	8.00*	174.00*	7.50 ef	75.20 ij	7.25 h-m	4.33 b-e	8.10 b-g	1.88 j	66.50 n	9.21 ş	16.89 r	1.95 t
14	8.00*	160.00*	6.50 fgh	57.65 m	13.13 a	5.10 bc	8.18 b-g	2.18 e	67.56 m	21.41 f	15.86 ş	8.05 d
15	9.00*	166.00*	6.00 ghı	78.68 g-j	5.63 m	2.50 def	8.43 b-f	1.28 u	64.24 o	26.90 ç	15.30 u	8.71 ç
16	7.00*	166.00*	6.00 ghı	83.10 f-ı	7.33 h-m	3.63 c-f	5.48 f-ı	1.66 n	93.15 h	58.69 a	28.74 e	17.57 a
17	8.00*	172.00*	5.00 ij	19.50 p	6.45 lm	2.18 efg	3.45 ı	1.42 o	30.52 y	8.99 t	5.49 y	2.11 s
18	8.00*	160.00*	6.50 fgh	75.53 ij	8.43 e-j	3.18 c-f	7.38 b-h	1.20 w	71.59 k	14.56 m	17.89 m	5.12 h
19	9.00*	174.00*	6.00 ghı	73.05 jk	10.95 bc	4.83 bcd	7.78 b-h	2.54 b	60.50 r	9.51 s	20.92 j	3.27 o
20	9.00*	174.00*	11.00 b	95.80 cd	8.98 e-h	3.53 c-f	10.18 b	2.48 c	114.94 ç	16.06 j	28.13 f	3.99 k
21	7.00*	166.00*	10.00 c	67.10 kl	7.68 f-l	2.98 c-f	5.00 ghı	1.32 s	104.08 d	31.62 c	43.42 b	10.73 c
22	7.00*	157.00*	4.50 j	94.13 cde	9.33 c-f	3.13 c-f	6.85 c-h	1.82 k	50.88 u	18.41 ö	15.40 t	5.34 g
23	8.00*	166.00*	11.00 b	102.00 bc	9.10 e-h	4.18 b-e	8.73 b-f	1.36 r	131.87 b	23.25 e	40.50 c	6.84 e
24	8.00*	157.00*	5.00 ij	81.00 f-j	8.40 e-k	3.83 c-f	5.83 e-ı	1.18 x	55.05 t	9.52 r	19.13 l	3.02 p
25	7.00*	157.00*	5.50 hij	84.53 fgh	5.73 ab	2.35 def	10.00 bc	1.74 l	72.41 j	14.95 l	20.21 k	4.48 i
26	10.00*	174.00*	8.00 e	32.80 o	6.58 km	2.98 c-f	5.78 e-ı	2.56 a	97.63 g	24.41 d	17.83 n	5.07 ı
27	8.00*	166.00*	7.00 fg	97.50 c	7.95 f-l	1.53 fg	6.53 d-ı	2.12 f	99.31 f	16.03 k	34.66 d	3.92 l
28	7.00*	150.00*	6.50 fgh	106.30 b	6.85 ı-m	6.25 b	6.93 b-h	1.24 v	58.55 ş	3.02 y	23.27 i	1.02 x
29	8.00*	0.00*	4.50 ı	43.75 n	0.00 n	0.00 g	9.00 b-e	0.00 z	50.49 ü	10.25 p	14.28 ü	3.14 ö
<b>Ort.</b>	<b>7.86</b>	<b>154.07</b>	<b>6.91</b>	<b>76.25</b>	<b>7.86</b>	<b>3.65</b>	<b>7.71</b>	<b>1.60</b>	<b>75.72</b>	<b>16.84</b>	<b>22.45</b>	<b>4.81</b>

\*varyasyon saptanmamıştır. Aynı harfle gösterilen uygulamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre P<0,05 seviyesinde fark yoktur.



**Cizelge 5.** Dayanıklı *A. myosuroides* populasyonlarının morfolojik parametrelerine ait korelasyon matrisi.

	ÇH	TBZ	KS	BB	BU	BYA	YA	BDA	YAA	YKA	KAAs	KKA
ÇH	1.000											
TBZ	0.641*	1.000										
KS	0.068	0.027	1.000									
BB	-0.382	-0.560*	-0.423	1.000								
BU	-0.413	-0.347	-0.200	0.418	1.000							
BYA	-0.534	-0.372	0.092	0.338	0.569*	1.000						
YA	0.118	-0.040	0.230	0.168	0.245	0.123	1.000					
BDA	-0.477	-0.284	0.119	0.225	0.377	0.515	0.030	1.000				
YAA	0.204	0.065	0.731**	-0.325	-0.377	-0.117	0.141	0.110	1.000			
YKA	0.645*	0.442	0.503	-0.279	-0.411	-0.235	0.382	-0.205	0.646*	1.000		
KAAs	0.052	-0.230	0.556*	0.008	-0.278	-0.134	0.117	0.043	0.875**	0.482	1.000	
KKA	0.614*	0.446	0.428	-0.124	-0.309	-0.174	0.493	-0.212	0.564*	0.960**	0.432	1.000

\*\* 0.01'e göre önemli

\* 0.05'e göre önemli

**Cizelge 6.** Hassas *A. myosuroides* populasyonlarının morfolojik parametrelerine ait korelasyon matrisi.

	ÇH	TBZ	KS	BB	BU	BYA	YA	BDA	YAA	YKA	KAAs	KKA
ÇH	1.000											
TBZ	0.194	1.000										
KS	0.208	-0.125	1.000									
BB	-0.345	0.333	0.025	1.000								
BU	0.085	0.709**	-0.055	0.446	1.000							
BYA	-0.038	0.437	-0.005	0.363	0.503	1.000						
YA	0.209	-0.115	0.256	0.160	0.022	0.266	1.000					
BDA	0.446	0.752**	-0.058	0.078	0.553*	0.221	-0.041	1.000				
YAA	0.191	0.177	0.634*	0.252	0.142	0.090	0.244	0.164	1.000			
YKA	0.076	0.105	0.332	-0.055	0.029	-0.046	-0.001	0.033	0.592*	1.000		
KAAs	-0.077	0.195	0.423	0.384	0.197	0.162	0.143	0.017	0.852**	0.473	1.000	
KKA	0.002	0.131	0.239	0.006	0.098	-0.006	-0.020	0.004	0.529	0.967**	0.496	1.000

\*\* 0.01'e göre önemli

\* 0.05'e göre önemli

**Temel bileşenler analizi**

Dayanıklı *A. myosuroides* populasyonlarının morfolojik özelliklerine göre yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen PC bileşenleri ve bu bileşenlere karşılık gelen faktör gruplarına göre, incelenen toplam 12 özellik arasında toplam varyasyonun %82.208'ini temsil eden 4 PC bileşeni elde edilmiştir. Morfolojik özellikler arasında toplam varyasyonun %38'inin elde edildiği birinci PC bileşenin izahına en fazla katkı sağlayan özellik yaş kök ağırlığı (0.899) olurken, en az katkıyı sağlayan değer ise yaprak alanı (0.224) olmuştur. İkinci PC ekseninde %21.675'lik varyasyonun oluşumunu kuru aksam ağırlığı (0.621) yüksek pozitif ilişkisi temsil etmiş olup yaş kök ağırlığı (0.184) en az ilişki saptanan değer olmuştur. Üçüncü PC ekseninde %13.047'lik varyasyonun oluşumunu yaprak alanı (0.716) yüksek pozitif ilişkisi

temsil ederken bitki boyu (-0.578) ise PC4 ekseninde saptanan %9.487'lik varyasyonu açıklamıştır (Çizelge 7).

Hassas populasyonlarda ise toplam varyasyonun %77.877'sini temsil eden 4 PC bileşeni elde edilmiştir. Morfolojik özellikler arasında toplam varyasyonun %29.772'sinin elde edildiği birinci PC bileşenin izahına en fazla katkı sağlayan özellik yaş aksam ağırlığı (0.852) olurken, en az katkıyı sağlayan değer ise çimlenme hızı (0.183) olmuştur. İkinci PC ekseninde %22.139'luk varyasyonun oluşumunu tohum bağlama zamanı (0.721) yüksek pozitif ilişkisi temsil etmiş olup yaprak alanı (-0.063) en az ilişki saptanan değer olmuştur. Üçüncü PC ekseninde %13.882'lik varyasyonun oluşumunu çimlenme hızı (0.776) yüksek pozitif ilişkisi temsil ederken yaprak alanı (0.757) ise PC4 ekseninde saptanan %12.085'lik varyasyonu açıklamıştır (Çizelge 8).

**Çizelge 7.** Dayanıklı *A. myosuroides* populasyonlarına ait morfolojik parametrelerin ait oldukları faktör grupları ve bunlara karşılık gelen PC eksenleri.

	PC EKSENLERİ			
	1	2	3	4
<b>Özdeğerler</b>	4.560	2.601	1.566	1.138
<b>Varyasyon (%)</b>	38.000	21.675	13.047	9.487
<b>Kümülatif varyasyon (%)</b>	38.000	59.674	72.721	82.208
	Faktör Katsayıları			
	PC1	PC2	PC3	PC4
<b>Çimlenme hızı (gün)</b>	0.726	-0.441	0.286	-0.020
<b>Tohum bağlama zamanı (gün)</b>	0.552	-0.549	0.191	0.450
<b>Kardeş sayısı (adet)</b>	0.565	0.565	-0.243	0.323
<b>Bitki boyu (cm)</b>	-0.529	0.315	0.376	-0.578
<b>Başak uzunluğu (cm)</b>	-0.628	0.316	0.438	0.202
<b>Bayrak yaprak alanı (cm<sup>2</sup>)</b>	-0.492	0.562	0.208	0.382
<b>Yaprak alanı (cm<sup>2</sup>)</b>	0.224	0.399	0.716	-0.043
<b>Bin dane ağırlığı (g)</b>	-0.365	0.582	-0.077	0.395
<b>Yaş aksam ağırlığı (g)</b>	0.722	0.559	-0.326	-0.008
<b>Yaş kök ağırlığı (g)</b>	0.899	0.184	0.281	0.000
<b>Kuru aksam ağırlığı (g)</b>	0.532	0.621	-0.332	-0.387
<b>Kuru kök ağırlığı (g)</b>	0.834	0.203	0.444	-0.050

**Çizelge 8.** Hassas *A. myosuroides* populasyonlarına ait morfolojik parametrelerin ait oldukları faktör grupları ve bunlara karşılık gelen PC eksenleri.

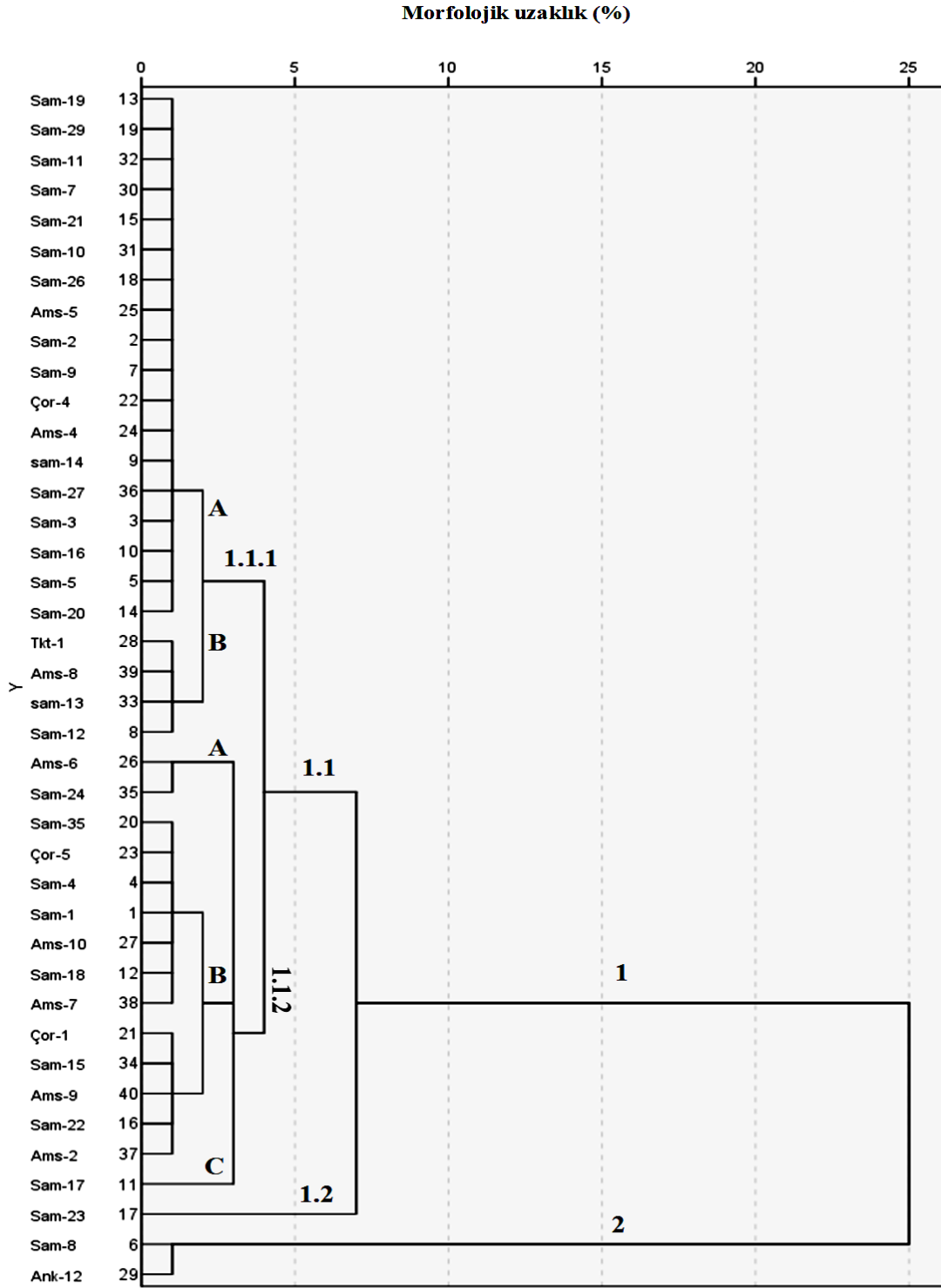
	PC EKSENLERİ			
	1	2	3	4
<b>Özdeğerler</b>	3.573	2.657	1.666	1.450
<b>Varyasyon (%)</b>	29.772	22.139	13.882	12.085
<b>Kümülatif varyasyon (%)</b>	29.772	51.911	65.793	77.877
	Faktör Katsayıları			
	PC1	PC2	PC3	PC4
<b>Çimlenme hızı (gün)</b>	0.183	0.095	0.776	0.460
<b>Tohum bağlama zamanı (gün)</b>	0.531	0.721	0.189	-0.204
<b>Kardeş sayısı (adet)</b>	0.484	-0.450	0.035	0.459
<b>Bitki boyu (cm)</b>	0.403	0.351	-0.689	0.002
<b>Başak uzunluğu (cm)</b>	0.511	0.703	-0.051	-0.089
<b>Bayrak yaprak alanı (cm<sup>2</sup>)</b>	0.366	0.527	-0.324	0.192
<b>Yaprak alanı (cm<sup>2</sup>)</b>	0.220	-0.063	-0.176	0.757
<b>Bin dane ağırlığı (g)</b>	0.396	0.645	0.511	0.008
<b>Yaş aksam ağırlığı (g)</b>	0.852	-0.336	-0.016	0.182
<b>Yaş kök ağırlığı (g)</b>	0.679	-0.490	0.219	-0.370
<b>Kuru aksam ağırlığı (g)</b>	0.788	-0.261	-0.290	0.003
<b>Kuru kök ağırlığı (g)</b>	0.673	-0.436	0.138	-0.445

**Hiyerarşik kümeleme analizi**

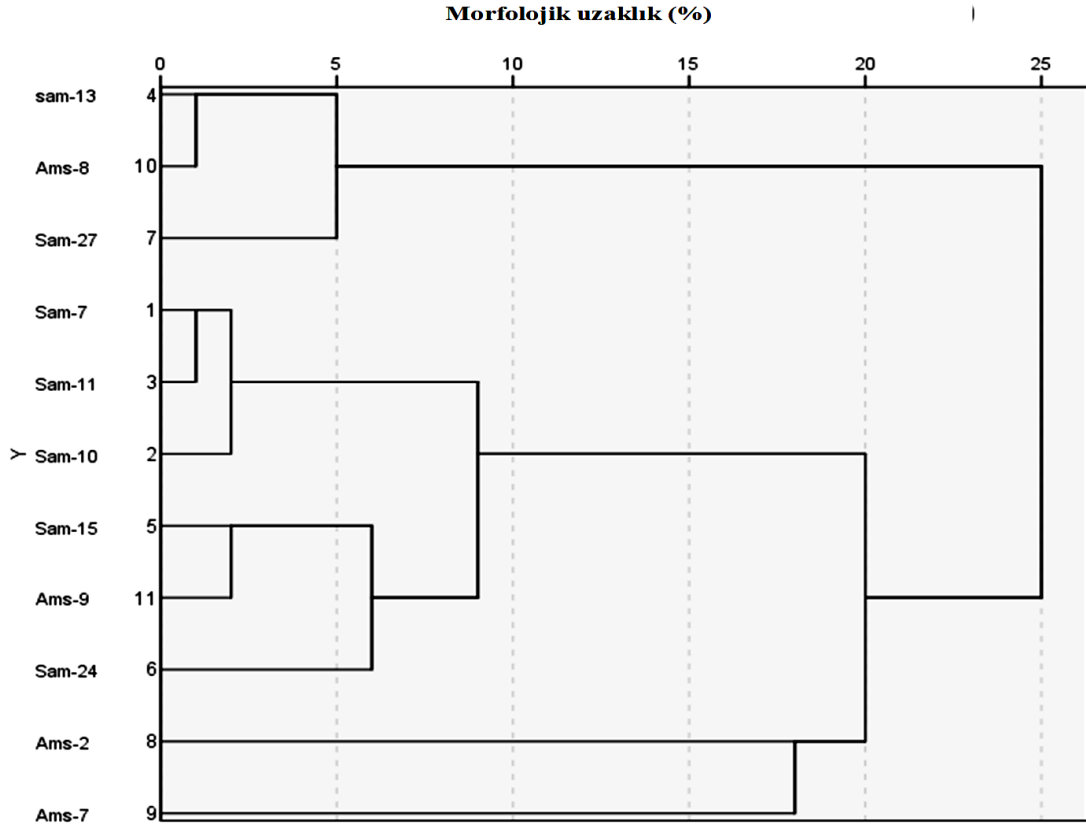
Populasyonların morfolojik karakterlerinin tümü birden hiyerarşik kümeleme analizine tabi tutulduğunda benzerlik düzeylerine göre oluşan dendogram Şekil 1' de verilmiştir. Buna göre %25'lik taksonomik uzaklıkta 2 farklı ana grubun oluştuğu görülmektedir. Ayrıca dayanıklı ve hassas populasyonların kendi aralarında oluşturduğu dendogramlar Şekil 2 ve Şekil 3'de verilmiştir.

Hiyerarşik kümeleme analizinde çalışılan dayanıklı ve hassas 40 populasyonun morfolojik özellikleri itibariyle yapılan gruplandırılması 2 ana grup,

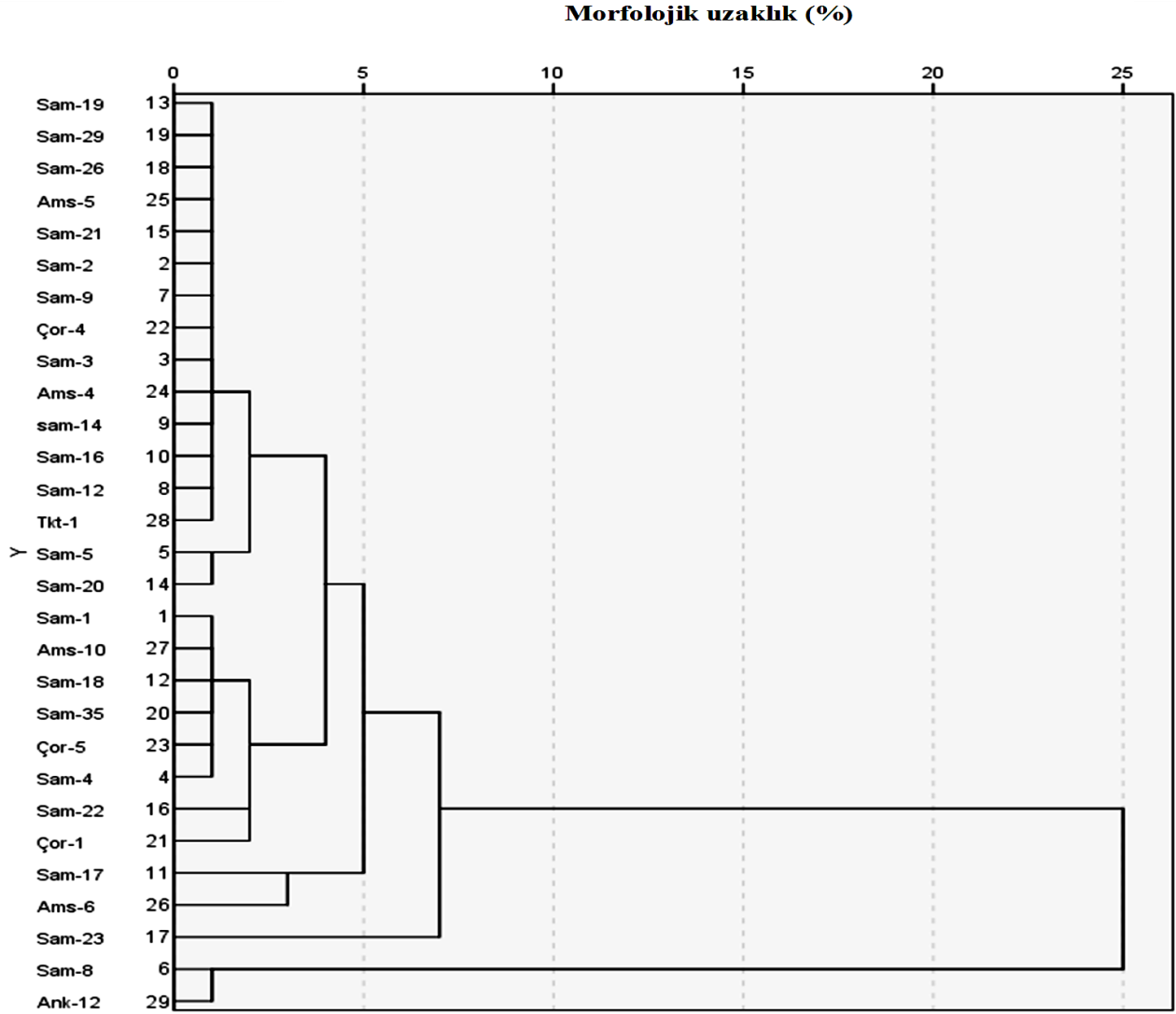
7 alt grup üzerinden gerçekleştirilmiştir. I. grup 2 alt gruptan (1.1 ve 1.2) oluşurken, 2. grup ise alt grup açılımı sergilememiştir. 1.1.1 (A) ve 1.1.1. (B) alt grupları sırasıyla 18 ve 4 populasyondan meydana gelmiş ve ikinci alt gruplar (1.1.2 (A) 1.1.2 (B)) 2 ve 13 populasyonla temsil edilmiştir. 1.1.2 (C) grup Samsun-Bafra (SAM-17) ve 1.2 no'lu grup Samsun-Çarşamba (SAM-23) populasyonu ile tek lokasyonları kapsamıştır. 2. grup ise lokasyonlar arası mesafenin yaklaşık 450 km olduğu Samsun-Ondokuzmayıs (SAM-8) ve Ankara-Haymana (ANK-12) lokasyonlarına aittir.



Şekil 1. Hiyerarşik kümeleme analiz metoduyla oluşturulan tüm populasyonlara ait morfolojik ilişki dendrogramı



**Şekil 2.** Hiyerarşik kümeleme analiz metoduyla oluşturulan dayanıklı populasyonlara ait morfolojik ilişki dendogramı



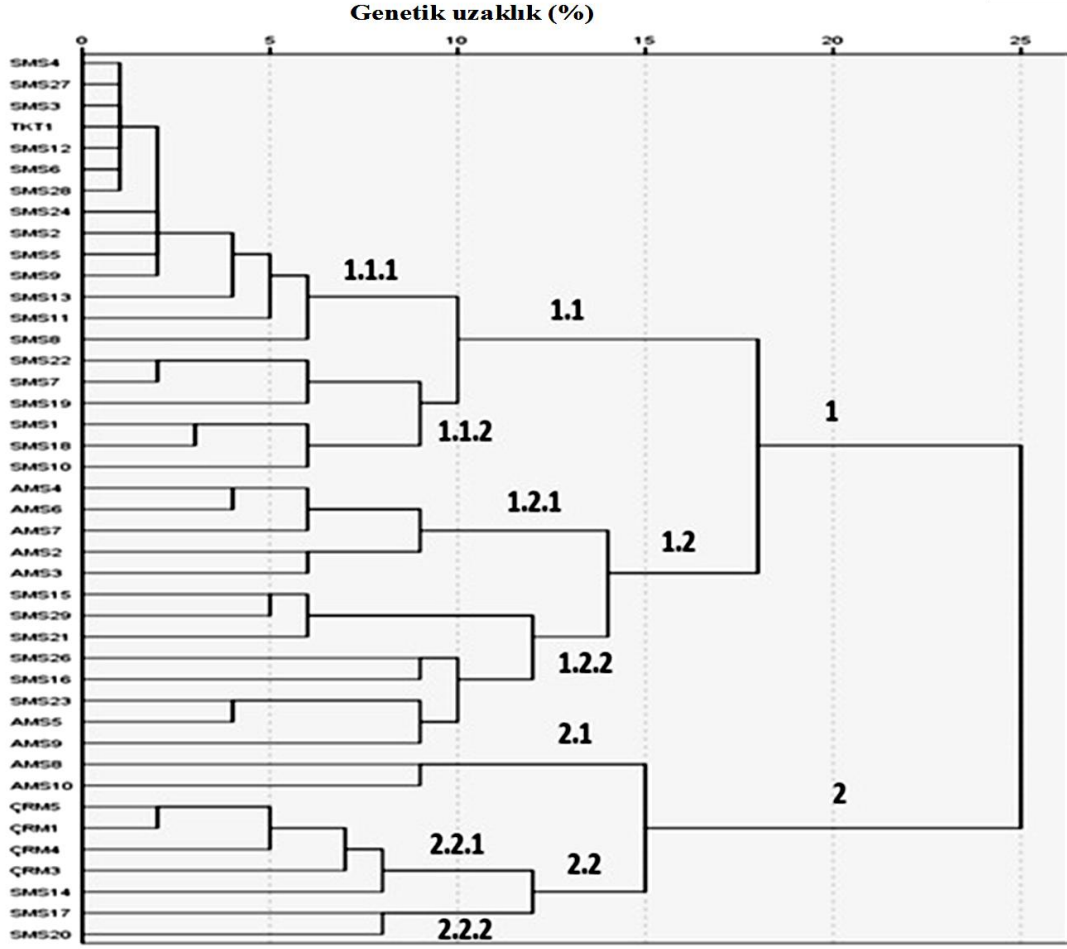
**Şekil 3.** Hiyerarşik kümeleme analiz metoduyla oluşturulan hassas populasyonlara ait morfolojik ilişki dendogramı

#### **A. *myosuroides*'in moleküler bulguları**

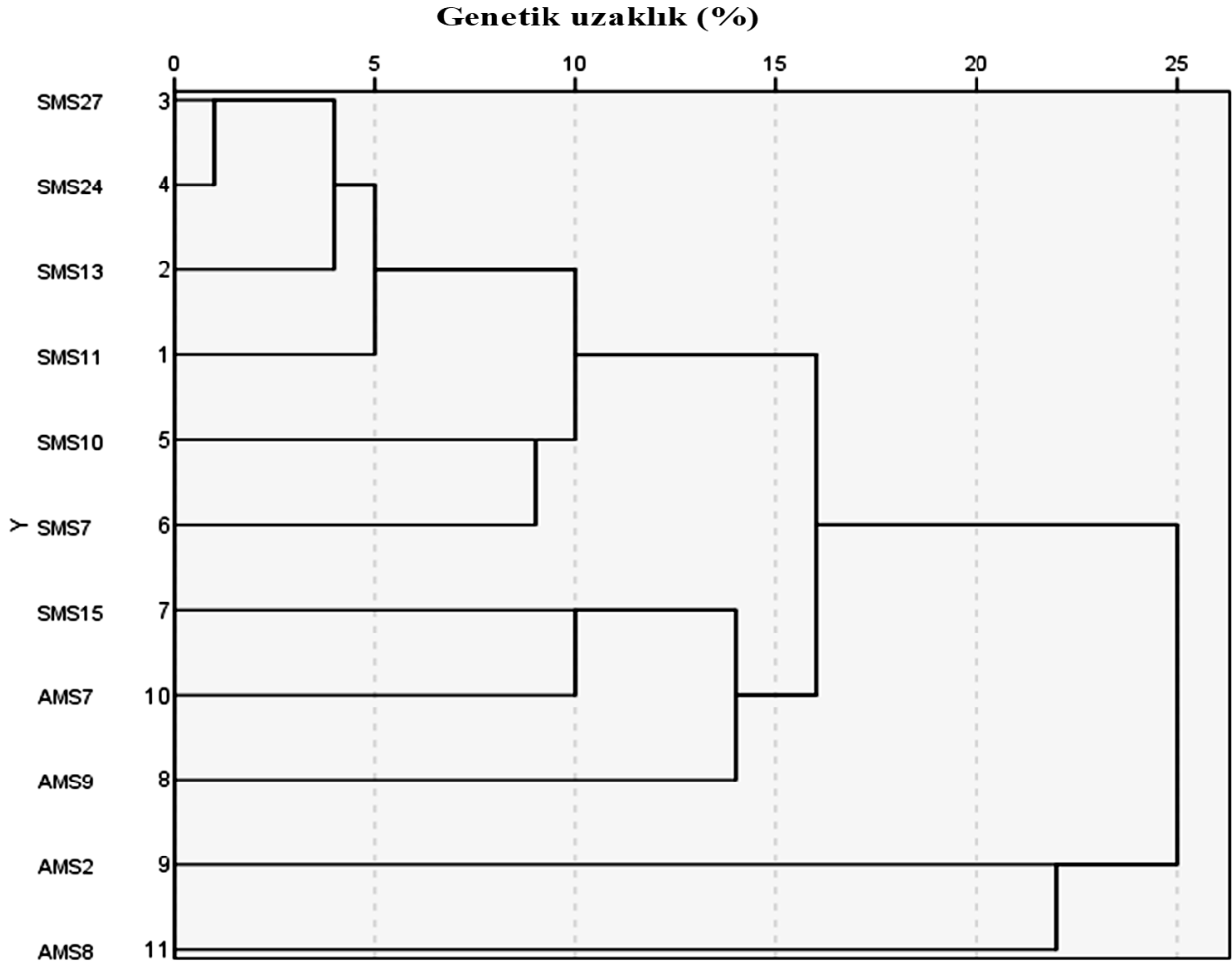
Çalışma kapsamında 4 ilin merkez ve ilçelerindeki buğday ekim alanlarından toplanan 40 *Alopecurus myosuroides* genotipi 11 farklı SSR primeri ile taranmıştır. Yapılan farklı optimizasyon çalışmalarına rağmen ancak 5 farklı SSR primerinden değerlendirilebilir verilere ulaşılmıştır. Loc01, 50-300 bp aralığında bantlaşma göstermiştir. En fazla oluşan bant sayısı 12 olup, bantların tamamı polimorfiktir. Loc02, 50-200 bp aralığında bantlaşma göstermiştir. En fazla oluşan bant sayısı 4 olup, bantların tamamı polimorfiktir. Loc03, 50-500 bp aralığında bantlaşma göstermiştir. En fazla oluşan bant sayısı 4 olup, bantların tamamı polimorfiktir. Loc04, 50-200 bp aralığında bantlaşma göstermiştir. En fazla oluşan bant sayısı 4 olup, bantların tamamı polimorfiktir. Loc05, 50-400 bp aralığında bantlaşma

göstermiştir. En fazla oluşan bant sayısı 5 olup, bantların tamamı polimorfiktir.

Polimorfik primerlerden oluşan bant indekslerinin var ya da yok şeklinde veri bilgisi esas alınmak suretiyle oluşturulan dendrogram bilgilerine göre çalışılan genotiplerin iki ana gruba ayrıldığı görülmektedir (Şekil 4). İncelenen genotipler esas alınarak soy ağacı 2 ana gruba ayrılmaktadır. UPGMA analizine göre oluşturulan soy ağacında en yakın genetik benzerlik (%100) Samsun ilinden toplanan bazı örneklerin kendi aralarında ve Tokat iline ait populasyonlar arasında belirlenmiştir. Genetik benzerliğin en az (%1) olduğu iller ise Amasya, Çorum ve Samsun illerine ait bazı populasyonlar arasında belirlenmiştir.

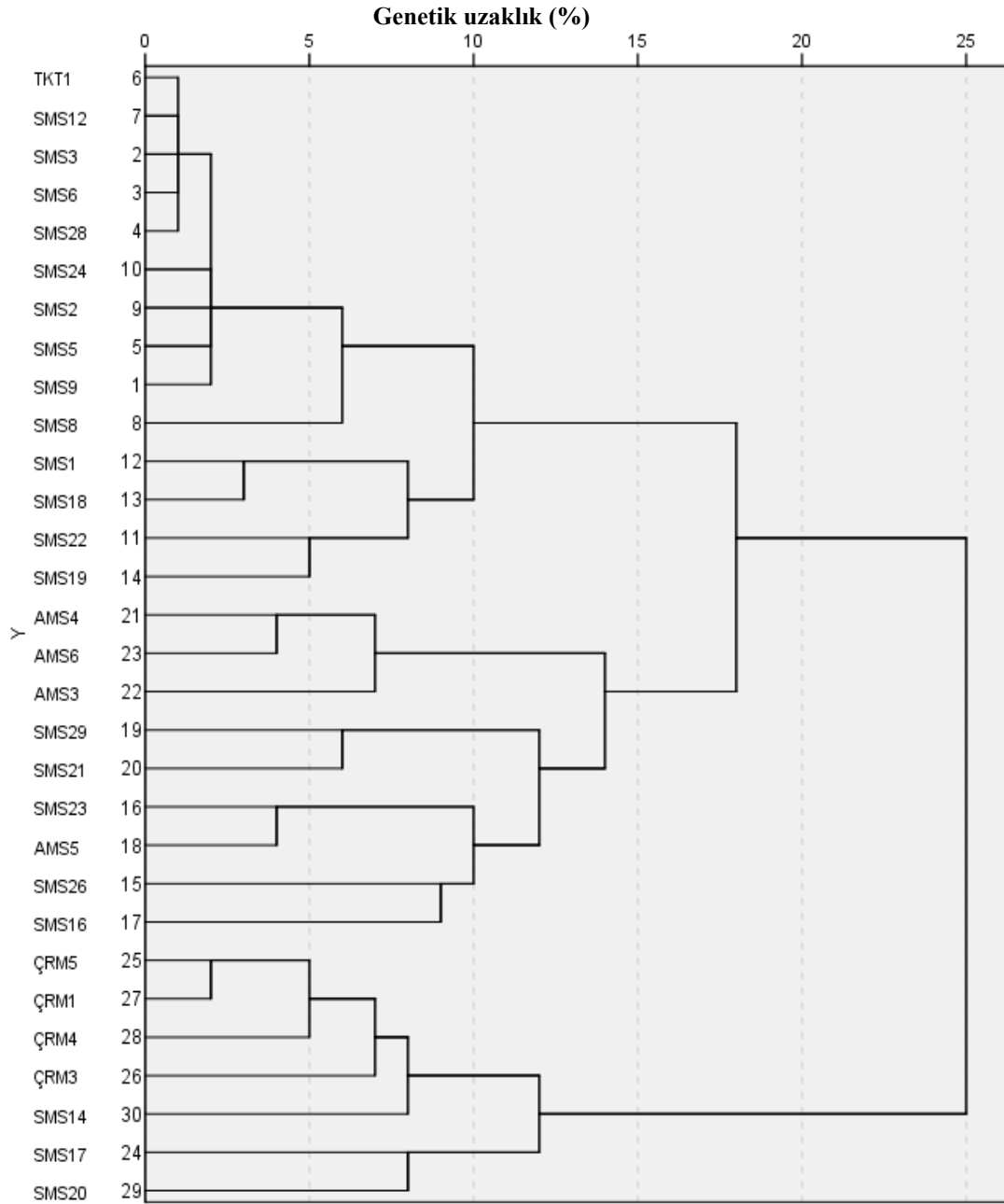


Şekil 4. Hiyerarşik kümeleme analizi metoduyla oluşturulan *A. myosuroides* 'e ait genetik ilişki dendogramı



**Şekil 5.** Hiyerarşik kümeleme analizi metoduyla oluşturulan dayanıklı *A. myosuroides* populasyonlarına ait genetik ilişki dendogramı





**Şekil 6.** Hiyerarşik kümeleme analizi metoduyla oluşturulan hassas *A. myosuroides* popülasyonlarına ait genetik ilişki dendogramı

Morfolojik ve genetik çeşitlilik çalışması gerek herbisitlerin gerekse de çevresel etkilerin yabancı ot türlerini nasıl etkilediği konusunda bilgi sahibi olabilmek adına önem arz etmektedir (Sterling ve ark., 2004). Yabancı otlara karşı taksonomik veri sağlama ve genetik çeşitlilik çalışmalarının sağlam temellere oturtulmasında sadece morfolojik verilerle güvenilir sonuçlara ulaşmak mümkün değildir. Morfolojik verilerin moleküler analizler neticesinde elde edilen veriler ile desteklenmesi gerekmektedir. Bu bilgiden yola çıkarak

seçilen 40 popülasyon üzerinden morfolojik ve genetik çeşitlilik çalışmaları yürütülmüştür.

*Alopecurus myosuroides* popülasyonlarının morfolojik özelliklerine göre yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucunda elde edilen PC eksenleri ve bu eksenlere karşılık gelen faktör grupları değerlendirildiğinde incelenen 12 özellik arasında toplam varyasyonun %82.208'ini temsil eden 4 PC eksen saptanmıştır. Toplam 7 grup olarak yapılan sınıflandırmada taksonomik uzaklığın 0 ile 0.025 arasında değişen oranlarda olduğu belirlenirken, bu

durum taksonomik sınıflandırmanın 6 grup olarak yapıldığı ve taksonomik mesafenin 0,016 olarak bulunduğu Juraimi ve ark., (2005)'nin çalışmasıyla da desteklendiği görülmüştür. Herbisitlere dayanıklı *A. myosuroides* allellerinin genetik varyasyonu, populasyon yapısı ve çeşitliliğini araştıran önceki bir dizi çalışma, genel olarak (i) populasyonlar içindeki genetik çeşitliliğin yüksek olduğu, (ii) populasyonlar arasındaki farklılığın düşük olduğu, (iii) dayanıklılığın süreç içerisinde farklılaşarak geliştiği ve dayanıklılığın gen akışı yoluyla dağıldığı sonucuna varmıştır (Menchari ve ark., 2006; 2007).

*A. myosuroides*'de populasyon içi ve populasyonlar arası genetik çeşitliliği belirlemek amacıyla SSR markerleri kullanılmış ve bu türün populasyonlarının yüksek genetik çeşitliliğe sahip olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışma kapsamında 11 SSR marker *A. myosuroides*'in genetik çeşitliliğinin belirlenmesi amacıyla test edilmiştir. Her bir SSR primerinin bağlanma sıcaklığı öncelikle formül yardımıyla ardından termal döngü aleti kullanılarak belirlenmiştir. Diğer PCR parametrelerinin de ayrı ayrı optimizasyonu yapılmış ve *A. myosuroides*'de hangi primerlerin çalıştığı tespit edilmiştir. Yapılan optimizasyon çalışmaları neticesinde toplam 5 SSR primerinin *A. myosuroides*'de çalıştığı belirlenmiştir.

Moleküler verilerin hiyerarşik kümeleme analizi kullanılarak oluşturulan dendogramında örneklenen genotipler taksonomik olarak 2 ana grup olmak üzere toplam 6 grupta sınıflandırılmıştır. Genotiplerin coğrafi lokasyonlar bazında incelendiğinde aynı yerlerden alınan genotipler aynı alt gruplarda toplanmıştır. López-Vinyallonga ve ark., (2011)'de dar endemik bir bitki olan *Centaurea corymbosa*'nın genetik yapısını altı mikrosatellit lokusu kullanarak araştırmışlar ve elde ettikleri sonuçları allozim analizi ile karşılaştırmışlardır. Mikrosatellit analizi populasyonlar arasında geniş bir farklılaşma olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca allozim lokuslarının gen akışı kapsamının tespitinde mikrosatellitlere göre daha güçsüz olduğu belirtilmiştir. Kaya (2008) RAPD primerlerini kullanarak Marmara ve Karadeniz Bölgelerinden toplamış olduğu *Echinochloa crus-galli* populasyonları arasındaki genetik ilişkiyi belirlemiş ve genetik benzerliğin %33 ile %92 arasında değiştiğini belirlemiştir. Naghavi ve ark., (2009) SSR markerlerini kullanarak 52 *Triticum aestivum* ve İran'ın çeşitli bölgelerinden topladıkları 13 *Aegilops* türü arasındaki genetik ilişkiyi belirlemek için 21 SSR primeri ile çalışmıştır. Bu çalışma kapsamında ise 40 *A. myosuroides* populasyonuna ait genetik ilişkiyi belirlemek için 11 SSR primeri ile çalışılmıştır. Çağlar (2010) yapmış olduğu çalışmada 3 SSR primeri

kullanmış olup *Centaurea nivea* biyotipindeki genetik benzerlik oranının %26 ile %76 arasında değiştiği görülmüştür. Kaya-Alttop (2012) yapmış olduğu bir çalışmada RAPD primerlerini kullanarak çeltik ekim alanlarında sorun olan *Cyperus difformis* populasyonları arasındaki genetik ilişkiyi belirlemiş olup genetik benzerliğin %0,01 ile %96 arasında değiştiğini belirlemiştir. 5 SSR primeriyle yapılan bir diğer çalışmada ise 62 *E. oryzoides* populasyonları arasında genetik çeşitlilik oranı mevcut çalışmayı destekler nitelikte bulunmuştur (Alttop ve ark., 2018).

*A. myosuroides*'te ise genetik benzerlik oranı 0,01 (%1) ile 0,100 (%100) arasında değişiklik göstermiş olup yapılan diğer çalışmalarla benzerlik göstermiştir. Birbirine en uzak genetik benzerlik %1 değeri ile Amasya, Çorum ve Samsun illerine ait bazı populasyonlar arasında belirlenmiştir. Birbirine en yakın genetik benzerlik ise %100 ile Samsun ilinden toplanan bazı örneklerin kendi aralarında ve Tokat iline ait populasyonlar arasında belirlenmiştir.

## SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan morfolojik ve moleküler analizlerde incelenen populasyonlar arasında bazı kantitatif karakterler açısından farklılıklar tespit edilmiştir. Farklı bölgelerde yetişen *A. myosuroides* populasyonları arasında morfolojik bakımdan göz ardı edilmeyecek düzeylerde benzerlikler saptanırken genetik olarak çeşitlilik daha yüksek bulunmuştur.

Morfolojik ve moleküler çalışmaların birlikte değerlendirilmesi sonucunda *A. myosuroides* populasyonları arasında varyasyonun, morfolojik olarak düşük, genetik olarak ise daha yüksek olması öncelikli olarak coğrafi alanlara adaptasyon, insanlar ve aletler tarafından tohumların bölgeler arası taşınması ve yabancı ot mücadele yöntemleri içerisinde özellikle kullanılan herbisitlere karşı yabancı ot tarafından geliştirilen dayanıklılıktan kaynaklanabileceği kanısına varılmıştır.

Bu çalışma ülkemizde *A. myosuroides* türünde morfolojik ve moleküler çalışmaları birlikte kapsayan, hem çeşitlilik hem de dayanıklılığı aralarında ilişkilendirmek suretiyle birlikte değerlendirildiği için oldukça önem taşımaktadır.

**KAYNAKLAR**

- Altop EK, Jabran K. and Mennan H. (2018). Determination of Morphological and Genetic Diversity of ALS (Acetolactate Synthase)-Herbicide-Resistant *Echinochloa oryzoides* Biotypes in Rice. *Int J Agric Biol.* 20: 628-636.
- Altop EK. and Mennan H. (2011). Genetic and Morphologic Diversity of *Echinochloa crus-galli* Populations from Different Origins. *Phytoparasitica*, 39: 93-102.
- Agarwal M., Shrivastava N. and Padh H. (2008). Advances in Molecular Marker Techniques and Their Applications in Plant Sciences. *Plant Cell Rep*, 27: 617–631.
- Boylu D. (2017). Tilkikuyruğu (*Alopecurus myosuroides* huds.) Yabancı Otunda Herbisit Dayanıklılığının ve Basit Dizi Tekrarlarıyla Genetik Çeşitliliğinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Ching A.DA., Caldwell K.S. and Jung M. (2002). SNP frequency, haplotype structure and linkage disequilibrium in elite maize inbred lines. *BMC Genet*, 3, 19.
- Çağlar E. (2010). Mikrosatellit Temelli Markörlerle *Centaurea nivea* 'daki Genetik Çeşitliliğin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, 2010.
- De Vicente MC. and Fulton T. (2004). Using Molecular Marker Technology in Studies on Plant Genetic Diversity: Learning Module, Vol 1, Institute for Genomic Diversity/International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), Cornell University, Rome, Italy.
- Filiz E., Ozdemir BS., Tuna M. ve Budak H. (2009). Diploid *Brachypodium distachyon* of Turkey: Molecular and Morphological analysis, Molecular Breeding of Forage and Turf, ed: Yamada T. and Spangenberg G., Springer Science, pp: 83.
- Filiz E. ve Koç İ. (2011). Bitki Biyolojisinde Moleküler Markörler. *GOÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(2): 207-214.
- Gressel J. (2002). Molecular Biology of Weed Control. London and New York: Taylor & Francis.
- Gressel J. and Segel LA. (1982). 'Interrelating Factors Controlling The Rate of Appearance of Résistance: The Outlook for The Future'. Pages 325-347 in H.M. LeBaron and J. Gressel (eds.), Herbicide résistance in plants. John Wiley & Sons, New York.
- Güncan A. (2010). Yabancı Ot Mücadelesi, Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Genişletilmiş ve ilave 2. Baskı, Konya, 278.
- Holt JS. and Lebaron HM. (1990). 'Significance and Distribution of Herbicide Resistance'. *Weed Techn.*, 4: 141-149.
- Kaya E. (2008). Farklı Çeltik Ekim Alanlarından Toplanan *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv. (Darıcan) Populasyonlarının Morfolojik Ve Genetik Farklılığının Saptanması, Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Kaya-Altop E. (2012). Çeltik Ekim Alanlarında Sorun Olan *Cyperus difformis* L. (Kız otu)' in Genetik Çeşitliliğinin ve ALS Grubu Herbisitlere Dayanıklılığının Moleküler ve Biossay Yöntemlerle Belirlenmesi, Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- López-Vinyallonga S., López-Alvarado J., Constantinidis TS. and Alfonso Garcia-JN. (2011). Microsatellite Cross-Species Amplification in The Genus *Centaurea* (Compositae). *Collectanea Botanica*. 30: 17-27.
- Matsuoka Y., Mitchell SE, Kresovich S., Goodman M. and Doebley J. (2002). Microsatellites in *Zea*-Variability, Patterns of Mutations and Use for Evolutionary Studies. *Theor. Appl. Genet.* 104: 436-450.
- Maxwell BD., Roush ML. and Radosevich SR. (1990). 'Predicting the Evolution and Dynamics of Herbicide Resistance in Weed Populations'. *Weed Techn.*, 4(1): 2-13.
- Meekins JF., Ballard HE. and McCarthy BC. (2001). Genetic Variation and Molecular Biogeography of a North American Invasive Plant Specie (*Alliaria petiolata*, (Brassicaceae). *Int. J. Plant Sci.* , 162 (1): 161-169.
- Menchari Y., Camilleri C., Michel S., Brunel D., Dessaint F., Le Corre V ve ark. (2006). Weed Response to Herbicides: Regional-Scale Distribution of Herbicide Resistance Alleles in The Grass Weed *Alopecurus myosuroides*. *New Phytol.* 171: 861–873.
- Menchari Y., Délye C. and Le Corre V. (2007). Genetic Variation and Population Structure in Black-Grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.), a Successful, Herbicide-Resistant, Annual Grass Weed Of Winter Cereal Fields. *Mol. Ecol.* 16: 3161–3172.
- Michishita Y. and Yamaguchi H. (2003). Unique Forms of Weeds and Millets in East Asian Annual *Echinochloa*. In: Proceedings of the 18th APWSS Conference (Manila, the Philippines, 17–21 March 2003, The Asian-Pacific Weed Science Society, Manila, pp. 215–219.
- Naghavi MR., Aghaei MJ., Taleei AR., Omidi M., Mozafari J. and Hassani ME. (2009). Genetic Diversity of The D-genome in *T. aestivum* and *Aegilops* Species Using SSR Markers. *Genet Resour Crop Evol.*, 56: 499–506.
- Niemann P., Bünte R. and Hoppe JH. (2002). First proofs of flupyr-sulfuron-resistance within *Alopecurus myosuroides* in Nothern Germany. *Gesunde Pflanzen.* 54: 183-187.
- Nissen SJ., Masters RA., Lee DJ. and Rowe ML. (1995). DNA-Based Markers Systems to Determine Genetic Diversity of Weedy Species and Their Application To Biocontrol. *Weed Sci.*, 43: 504-513.
- Pala F., Mennan H. (2017). Diyarbakır İli Buğday Tarlalarında Bulunan Yabancı Otların Belirlenmesi. *Bitki Koruma Bülteni*, 57(4): 447-461.
- Pala F., Mennan, H., Cig F., and Dilmen, H. (2018). Diyarbakır'da Buğday Ürününe Karışan Yabancı Ot Tohumlarının Belirlenmesi. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 5(3): 183-190.
- Park KW. and Mallary-Smith CA. (2004). 'Physiological and Molecular Basis For ALS Inhibitor in *Bromus tectorum* biotypes', *Weed Res.*, 44: 71-77.
- Powell W., Machray GC. and Provan J. (1996). Polymorphism Revealed by Simple Sequence Repeats. *Trends in Plant Sci.*, 1(7): 215-221.
- Puri A., MacDonald GE., Altpeter F. and Haller WT. (2007). 'Mutations in Phytoene Desaturase Gene in Fluridone-Resistant Hydrilla (*Hydrilla verticillata*) Biotypes in Florida', *Weed Sci.*, 55(5): 412-420.
- Sibony M. and Rubin B. (2003). 'The Ecological Fitness of ALS-Resistant *Amaranthus retroflexus* and Multiple-Resistant *Amaranthus blitoides*', *Weed Res.*, 43(1): 40–47.

- Sun M (1997). Populations Genetic Structure of Yellow Starthistle (*Centaurea solstitialis*), Colonizing Weed in The Western United States. *Can J Bot.*, pp. 1470-1478.
- Vila-Aiub MM., Neve P. and Powles SB. (2005). 'Resistance Cost of a Cytochrome P450 Herbicide Metabolism Mechanism but Not an ACCase Target Site Mutation in a Multiple Resistant *Lolium rigidum* Population', *New Phytologist*, 167: 787-796.
- Yabuno T. (2001). Taxonomy and Phylogeny of The Genus *Echinochloa*. In: Natural History of Genus *Echinochloa*, revised edn (Eds. by Yabuno T. and Yamaguchi H.). Zennokyo Shuppan, Tokyo, pp. 15-30.

©Türkiye Herboloji Derneği, 2021

Geliş Tarihi/ Received: Ekim/October, 2021  
Kabul Tarihi/ Accepted: Aralık/December, 2021

**To Cite** : Boylu D. and Kaya Altop E. (2021). Determination of Morphological and Genetic Diversity of *Alopecurus myosuroides* Huds. in Wheat. *Turk J Weed Sci*, 24(2):108-127.

**Alıntı için** : Boylu D. and Kaya Altop E. (2021). Buğday Alanlarında Sorun Olan *Alopecurus myosuroides* Huds.'un Morfolojik ve Genetik Çeşitliliğinin Belirlenmesi. *Turk J Weed Sci*, 24(2):108-127.