

# Bitki Koruma Bülteni / Plant Protection Bulletin

<http://dergipark.gov.tr/bitkorb>

Original article

## Determination of genetic and morphologic diversity of *Cyperus difformis* L. (Smallflower umbrella sedge) in rice growing areas

Çeltik ekim alanlarında sorun olan *Cyperus difformis* L. (Kız otu)'in genetik ve morfolojik çeşitliliğinin belirlenmesi

Emine KAYA ALTOP <sup>a\*</sup>, Hüsrev MENNAN <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Ondokuz Mayıs University, Faculty of Agriculture, Plant Protection Department, Atakum, Samsun

### ARTICLE INFO

Article history:

DOI: 10.16955/bitkorb.410419

Received : 28.03.2018

Accepted : 29.05.2018

Keywords:

quantitative characters, molecular marker, management strategies, weed

\* Corresponding author:  
Emine KAYA ALTOP

✉ [kayae@omu.edu.tr](mailto:kayae@omu.edu.tr)

### ABSTRACT

*Cyperus difformis* L. (Smallflower umbrella sedge) is one of the important weed species in the rice production areas worldwide. To investigate the effect of the morphological and genetic diversity to the existing herbicide resistance in Turkey, it was studied with 50 populations to represent the rice growing areas. To determine the morphological diversity, 13 different characteristics were recorded. The results of the analysis showed a morphologically significant difference between the populations. The genetic variation among populations was determined by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) analysis using 17 oligonucleotide primers. According to the dendrogram information generated using Average Linkage, populations were classified into two main groups at 0.25 genetic distance. The morphological and molecular analyses revealed differences in terms of several quantitative characteristics among the populations examined. Similarities were also found among different *C. difformis* population grown in different regions in terms of their morphological characteristics, the genetic diversity was found to be higher. This indicates a high potential at the point of gene transfer. We have concluded that the transfer of seeds between regions and the resistance developed by weed against herbicides and adaptation of species to the geographical area may be cause to these results. In this situation, it is necessary to focus on the control of *C. difformis* seed movement, rice seed trafficking and the use of herbicide uses as well as in the field management practices such as or cultural methods. It should not be forgotten that the measures to be taken at this point are important at the point of integrated management strategies.

### GİRİŞ

*Cyperus difformis* L. (Kız otu) yüksek oranda kendine döllen, tek yıllık, C3 tipinde (Barrett and Seaman 1980, Tyndall 1983) hem sucul hem de karasal hayata adaptasyonu nedeniyle dünya genelinde çeltik üretim alanlarında sorun olan önemli yabancı ot türlerinden biridir (Holm et al. 1977,

Özer et al. 1999, Swain et al. 1975). Tek yıllık oluşu, hızlı büyüme, kısa generasyon zamanı, yüksek üreme yeteneği, güçlü kök sistemi ve topraktaki yüksek tohum rezervi bu türün popülasyon sayısının fazla oluşunu ve aynı zamanda yüksek dağılım oranını açıklamaktadır (Holm et al. 1977).

Türün geniş morfolojik ve genetik çeşitlilik göstermesi kontrolünü güçlendirmekte, aynı zamanda herbisitlere dayanıklı biyotip oluşumunu da hızlandırmaktadır (Michishita and Yamaguchi 2003, Yabuno 2001, Yamaguchi et al. 1996 ). Genetik çeşitliliği yüksek olan türler, zamana ve yere göre değişen çevre koşullarına daha başarılı uyum sağlama, çoğalma ve rekabet yeteneğine sahiptir (Işık 1997, Pala ve Mennan 2016). Bu bağlamda değerlendirildiğinde genetik çeşitliliğin yüksekliği herbisitlere dayanıklılık olgusu için tetikleyici bir rol oynamanın yanı sıra, dayanıklı popülasyonların adaptasyon yeteneklerinin artışı da desteklemektedir. Bu doğrultuda yapılan bazı çalışmalarda Cyperaceae familyasına ait türlerde kendiliğinden hibrit türlerin oluşabileceği, bu durumun ise polyploidi ve aseksüel çoğalmayla ilişkili olduğu ve bu durumun açıklanabilmesi için morfolojik ve moleküler farklılıkların birlikte değerlendirilmesinin zorunluluğuna vurgu yapılmıştır (Arriola and Ellstrand 1996). Son yıllarda türlerin çeşitliliği konusunda sadece morfolojik çalışmalarla yeterli bilgiye ulaşılamayacağından dolayı bazı türlerin genetik çeşitliliği üzerinde çalışmalara başlanmış ve popülasyon genetik strüktürünün anlaşılmasına çalışılmıştır (Ye et al. 2004). Genetik markörler bitki popülasyonlarının genetik strüktürünün aydınlatılması yönünde ışık tutmakta önemli ipuçları vermektedir. Genetik markörlerin kullanımı yönünde çeşitli görüşler ve amaca uygun farklı birçok teknik mevcuttur. Bunlar içerisinde dominant markör olması nedeniyle ilk uygulamalardan olan Rasgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD) önemli yer tutmaktadır (Fritsch and Rieseberg 1992, Gaiotto et al. 1997, Gjuric and Smith 1996). RAPD analizi, türlerin dayanıklılık orijininin saptanmasında duyarlı ve dayanıklı popülasyonların genetik varyasyonlarının belirlenmesinde kullanılmıştır (Rutledge et al. 2000). Bu yöntemle Cyperus cinsine ait türlerin genetik farklılıklarına yönelik veri elde etmek adına oldukça ümit verici sonuçlara ulaşıldığı görülmüştür (Abad et al. 1998, Okoli et al. 1997, Tayyar et al. 2003). Ancak *C. difformis*'e ait kısıtlı sayıda genetik çeşitlilik çalışmasına rastlanılmıştır.

Genetik çeşitlilik çalışmaları biyolojik mücadelede biyokontrol ajanlarının seçilmesini mümkün kılabilir (Nissen et al. 1995). Dayanıklılık geliştirmiş türlere karşı uygulanacak biyolojik mücadele ajanlarının belirlenmesi için de genetik varyasyonun saptanması gerekmektedir. Okoli et al. (1997) tarafından RAPD-PCR yöntemiyle gerçekleştirilen çalışmada biyolojik mücadele ajanlarının seçiminde genetik çeşitliliğin etkin bir rol oynadığı vurgulanmıştır. Çalışmada biyoherbisit olarak ruhsatlandırılmış bir pas fungusu olan *Puccinia canaliculata*'ya karşı farklı coğrafik alanlardan toplanmış *Cyperus rotundus* ve *Cyperus esculentus* türlerinin göstermiş oldukları farklı hassasiyet dereceleri genetik

çeşitlilikler saptanarak ortaya konmuştur. Bu durum yabancı otlara karşı biyolojik mücadele uygulamalarına ışık tutarak aynı zamanda herbisit kullanımının azaltılmasına imkan vermesi nedeniyle de önemlidir. Genetik çeşitlilik gösteren popülasyonlar kontrol ajanlarına karşı daha yüksek oranda dayanıklılık geliştirebilmekte ve mücadele olanaklarını zorlaştırmaktadır (Meekins et al. 2001). RAPD-PCR yöntemi kültüre alınmış ve yabancı formdaki yabancı otların tanımlanmasında da başarıyla kullanılabilmiştir (Abad et al. 1998).

Genetik çeşitlilik çalışmaları herbisitlerin ve çevresel etkilerin türlerin değişimini nasıl etkilediğini belirlemek, önemli yabancı ot türleri ile mücadelede bilgi sahibi olabilmek ve türlerin herbisitlere gösterebileceği farklılıkların nedenlerinin ortaya konulabilmesi açısından da temel bir misyon üstlenmiş durumdadır (Sterling et al. 2004). Herbisitlere dayanıklı *Cyperus* türlerinin genetik çeşitliliğinin belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalarda genetik çeşitlilik oranları yüksek bulunmuş ve genetik farklılık taramalarında RAPD analizinin etkin olarak güvenle uygulanabileceğine işaret edilmiştir (Tayyar et al. 2003). Merotto et al. (2009) tarafından *C. difformis*'in acetolaktat sentez inhibitörü herbisitlere dayanıklı ve hassas popülasyonlarının genetik çeşitliliği üzerinde yapılan çalışma bulguları, farklı çeltik tarlalarında yüksek herbisit dayanıklılığına sebep olan birincil faktörün, dayanıklılık genlerini taşıyan *C. difformis* tohumları olduğunu ortaya koymuştur. Bu bağlamda değerlendirildiğinde dayanıklı biyotiplerde tohum üretimi ve yayılımının önlenmesi yabancı ot mücadele stratejilerinde temel hedefi oluşturmaktadır.

Cyperus türlerinde olduğu gibi birçok yabancı türde de genetik varyasyonun saptanmasına yönelik çalışmalar dünya genelinde hızla sürdürülmektedir. Ancak mevcut literatür tarama ve bilgilerimize göre dünyada *C. difformis*'in morfolojik ve genetik çeşitliliği üzerine oldukça kısıtlı çalışmalar yapıldığı ve ülkemizde mevcut herhangi bir çalışmanın olmadığı görülmüş, bu nedenle yapılacak olan bu çalışma ile elde edilen verilerin evrensel bilime ve literatüre katkı sağlayacağı düşünülmüştür. Bahsedilen bilgiler ışığında bu çalışmanın amacı, ülkemiz çeltik ekim alanlarında sorun olan *C. difformis*'de morfolojik ve genetik çeşitliliğin saptanmasıyla ülkemizdeki mevcut dayanıklılık olgusuna etkisinin araştırılması ve bu türe karşı geliştirilecek entegre mücadele stratejilerinin belirlenmesinde sağlıklı yorumlamaya gidilebilmesi açısından yol gösterici olunabilmesidir.

**MATERYAL VE METOT***Bitki materyali*

*C. difformis*'in gerek morfolojik ve gerekse de genetik çeşitliliğinin belirlenmesi amacıyla toplamda 50 popülasyon ile çalışılmıştır. Popülasyonlara ait tohum örnekleri

TÜBİTAK TOVAG-1080371 nolu proje kapsamında Marmara ve Karadeniz Bölgelerinin Samsun, Balıkesir, Bursa, Edirne, Kastamonu, Kırklareli, Sinop, Tekirdağ ve Çorum illerine ait çeltik ekim alanlarından 2009 yılı vejetasyon döneminde toplanan materyallerdir (Çizelge 1).

**Çizelge 1.** Morfolojik ve genetik çeşitliliklerin belirlenmesinde kullanılan popülasyonlara ait coğrafik bilgiler

NO	İL	İLÇE	POPÜLASYON	KOORDİNAT	KOORDİNAT
1	EDİRNE	HAVSA	EDİ-C-25	41° 25. 479'	26° 49. 169'
2		İPSALA	EDİ-C-40	41° 02. 854'	26° 23. 046'
3			EDİ-C-79	40° 53. 470'	26° 21. 735'
4			EDİ-C-12	40° 51. 748'	26° 20. 546'
5			EDİ-C-52	40° 55. 950'	26° 24. 533'
6			EDİ-C-13	40° 56. 004'	26° 24. 869'
7		MERİÇ	EDİ-C-110	41° 10. 519'	26° 20. 443'
8			EDİ-C-153	41° 04. 272'	26° 21. 018'
9			EDİ-C-126	41° 06. 378'	26° 20. 378'
10		MERKEZ	EDİ-C-142	41° 34. 334'	26° 37. 277'
11	SAMSUN	ALAÇAM	SAM-C-2	41° 37. 816'	35° 43. 863'
12		BAFRA	SAM-C-12	41° 39. 096'	35° 50. 722'
13			SAM-C-25	41° 42. 043'	35° 55. 014'
14		ÇARŞAMBA	SAM-C-37	41° 16. 568'	36° 44. 104'
15		ONDOKUZ MAYIS	SAM-C-50	41° 32. 075'	36° 03. 828'
16		TERME	SAM-C-62	41° 10. 418'	36° 55. 134'
17			SAM-C-68	41° 05. 252'	37° 07. 384'
18			SAM-C-71	41° 13. 500'	36° 58. 096'
19	KIRKLARELİ	BABAESKİ	KIR-C-1	41° 20. 942'	27° 07. 347'
20			KIR-C-4	41° 21. 282'	27° 04. 041'
21			KIR-C-8	41° 21. 490'	27° 04. 095'
22		PEHLİVANKÖY	KIR-C-13	41° 22. 264'	26° 25. 754'
23			KIR-C-15	41° 20. 273'	26° 58. 059'
24	KASTAMONU	TOSYA	KAS-C-2	40° 56. 401'	33° 52. 519'
25			KAS-C-3	40° 56. 401'	33° 52. 519'
26			KAS-C-7	41° 03. 730'	34° 12. 300'
27			KAS-C-12	40° 56. 423'	33° 52. 527'
28	TEKİRDAĞ	HAYRABOLU	TEK-C-1	41° 03. 295'	27° 03. 606'
29			TEK-C-3	41° 03. 220'	27° 03. 696'
30			TEK-C-7	41° 03. 307'	27° 03. 591'
31		MALKARA	TEK-C-12	40° 56. 979'	27° 01. 026'

**Çizelge 1.** Morfolojik ve genetik çeşitliliklerin belirlenmesinde kullanılan popülasyonlara ait coğrafik bilgiler (devamı)

NO	İL	İLÇE	POPÜLASYON	KOORDİNAT	KOORDİNAT
32	BURSA	MERKEZ	BUR-C-1	40° 10. 356'	28° 11. 256'
33			BUR-C-6	40° 11. 873'	28° 11. 337'
34			BUR-C-7	40° 11. 868'	28° 11. 364'
35			BUR-C-4	40° 10. 728'	28° 10. 611'
36	SİNOP	SARAYDÜZÜ	SİN-C-1	41° 23. 532'	34° 56. 981'
37		BOYABAT	SİN-C-10	41° 32. 027'	34° 44. 784'
38		DURAĞAN	SİN-C-11	41° 26. 780'	34° 55. 352'
39	BALIKESİR	GÖNEN	BAL-C-7	40° 07. 170'	27° 43. 225'
40			BAL-C-18	40° 07. 458'	27° 42. 493'
41		MANYAS	BAL-C-39	40° 07. 391'	28° 03. 484'
42		MERKEZ	BAL-C-58	40° 06. 150'	28° 08. 227'
43	ÇORUM	KARGI	ÇOR-C-23	41° 04. 986'	34° 26. 134'
44			ÇOR-C-35	41° 06. 716'	34° 29. 605'
45			ÇOR-C-62	41° 04. 986'	34° 26. 134'
46		OSMANCIK	ÇOR-C-53	40° 57. 726'	34° 50. 011'
47			ÇOR-C-49	40° 57. 726'	34° 50. 011'
48		BAYAT	ÇOR-C-9	40° 29. 494'	34° 14. 502'
49		İSKİLİP	ÇOR-C-14	40° 36. 049'	34° 28. 558'
50			ÇOR-C-18	40° 29. 076'	34° 28. 592'

#### Morfolojik çalışmalar

Çalışma kapsamında her popülasyondaki *C. difformis* tohumları plastik saksılara ekilmiş (çap, 20 cm; yükseklik, 25 cm) ve screen house (kafesev)'de yetiştirilmiştir. Saksılar çeltik toprağı ile doldurulmuş ve denemeler tesadüf blokları deneme desenine göre 5 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Saksılara bölgelerde kullanılan gübre ve yeterince su verilmiştir. Saksı başına en erken çimlenme gösteren 5 bitki etiketlenip, diğerlerinin seyreltilmesi şeklinde gerçekleştirilen yetiştirme işleminde, bitkilerin tohumdan tohuma biyolojik evreleri günlük gözlemlerle takip edilmiş ve morfolojik parametre verileri alınmıştır. İncelenen parametreleri; bitki boyu (cm), kotiledon yaprak alanları (cm<sup>2</sup>), yaprak sayısı (adet), başaktaki ışın sayısı (adet), başak uzunluğu (cm), başakçık uzunluğu (cm), başaktaki ışın uzunluğu (cm), noddaki çiçek sayısı (adet), toplam çiçek sayısı (adet) ve toprak üstü yaş/kuru biomas (g) oluşturmuştur (Brown and Marshall 1981, Tayyar et al. 2003, Thullen and Keeley 1979). Bitkiler hasat edildikten sonra kuru biomas ölçümü için 70 °C'de 3 gün kurutulmuştur.

#### Genetik çalışmalar

##### DNA ekstraksiyonu

*C. difformis*'e ait 50 popülasyonun tohumları petri kaplarında çimlendirildikten sonra saksılara aktararak 12/12 aydınlatma periyodunda 30 °C'de kontrollü serada 4–6 yapraklı aşamaya kadar yetiştirilmiştir. Yaprak örneklerinden genomik DNA'lar DNeasy ekstraksiyon kiti (Qiagen, Qiagen GmbH, Hilden, Almanya) kullanılarak, kit protokolüne göre ekstrakte edildi. İzole edilmiş DNA konsantrasyonu ve nispi saflık, Nanodrop ND-1000 (Thermo Scientific) kullanılarak kontrol edilmiş ve 25 µl<sup>-1</sup> 'e ayarlanmıştır (Danquah et al. 2002, Kaya-Altıp and Mennan 2011, Santaella et al. 2006).

##### RAPD-PCR analizi

Çalışma kapsamında 10 baz dizimli 19 primer denenmiş olup, 17'si *C. difformis* örneklerinde başarıyla kullanılmıştır (Çizelge 2). Primerlerin sentezi İontek (İstanbul) firmasına yaptırılmıştır. PCR reaksiyonu 50 ng genomik DNA, 0,2 mM oligonükleotid primeri, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,4 mM dNTP, 0,2 Unite Taq DNA Polimeraz, 1XPCR buffer ve 11 µl sdH<sub>2</sub>O

karışım bileşenleriyle toplam hacim 25 µl olacak şekilde hazırlanıp PCR cihazına (Rotor-Gene Q 5plex HRM, Qiagen) yerleştirilmiştir. Reaksiyon koşulları ise; 95 °C'de 1 dk. başlangıç denaturasyonu, 45 döngü olacak şekilde 95 °C'de 1 dk, 72 °C'de 2 dk. ve 72 °C'de 5 dk. olacak şekilde ayarlanmıştır.

PCR sonrası oluşan DNA parçaları agaroz jel elektroforezine (Biorad) tabi tutulmuş ve bu amaçla %2'lik agaroz jel kullanılmıştır. 1 Kb'lik DNA markör (Ambresco®, USA) referans alınarak, jelde oluşan DNA bantlarının fotoğrafları jel görüntüleme cihazı (Syngene) yardımıyla çekilmiştir.

**Çizelge 2.** PCR uygulamasında kullanılan primerlere ait bilgiler (Abad et al. 1998, Okoli et al. 1997, Tayyar et al. 2003)

No	Primer	Baz dizisi 5'→3'	A260	O.D	M.A	pmol/µl
1	A07	GAAACGGGTG	0.11	5.00	3117	52.70
2	A20	CCGAGCAATC	0.13	7.50	2997	82.60
3	OPA01	CAGGCCCTTC	0.07	4.30	2963	45.40
4	OPA03	AGTCAGCCAC	0.07	4.00	2997	36.80
5	OPA08	GTGACGTAGG	0.10	6.20	3108	53.80
6	OPA20	GTTGCGATCC	0.12	7.30	3019	79.40
7	OPAE12	GTTGGGATCC	0.13	7.50	3019	82.00
8	OPE01	CCCAAGGTCC	0.07	4.00	2972	39.60
9	OPF3	CCTGATCAGG	0.11	6.40	3028	59.90
10	OPFO4	GGTGATCAGC	0.11	6.60	3068	59.50
11	OPF13	GGCTGCAGAA	0.11	6.80	3077	58.00
12	OPG 06	GTGCCTAACC	0.13	7.90	2988	86.80
13	OPN05	AGTGAACGCC	0.07	4.00	3037	35.40
14	OPNO6	GAGACGCACA	0.14	8.60	3046	93.00
15	OPNO9	TGCCGGCTTG	0.08	4.70	3035	50.90
16	OPN10	ACAACCTGGGG	0.03	4.50	3077	38.40
17	OPN12	CACAGACACC	0.07	4.00	2965	36.10

#### Bantların değerlendirilmesi

Bantların değerlendirilmesi 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.

#### İstatistiksel analizler

Morfolojik ve moleküler bulguların istatistiksel analizinde farklı metodlar kullanılmıştır. Morfolojik çalışmalar

neticesinde elde edilen veriler IBM SPSS Statistics 20 (for Windows) istatistiksel paket programında Hiyerarşik Kümeleme Analizi (Hierarchical Cluster Analysis)'ne tabi tutularak parametre değerlerine Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmış, dendogramları oluşturulmuş ve Temel Bileşen Analizi (Principal Component Analysis, PCA) (Backhaus et al. 1989) yapılmıştır.

Moleküler çalışmalar için aynı paket programında (Claerhout et al. 2015, Juraimi et al. 2005, Karn and Jasieniuk 2017, Lee et al. 2014, Santaella et al. 2006, Vilatersana et al. 2005) bantların 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 (Jaccard'a göre) algoritması kullanılarak çeşitlere ait dendogramlar çizilmiştir (Jaccard 1908, Nei 1972, Nei and Li 1979).

## SONUÇLAR

### Morfolojik çalışmalar

Farklı coğrafik lokasyonlardan toplanan 50 *C. difformis* popülasyonunda en yüksek bitki boyu Samsun-Çarşamba (SAM-C-37) (121.10 cm) popülasyonunda görülürken, en kısa bitki boyuna ise Kastamonu-Tosya (KAS-C-12) (60.01 cm) popülasyonunun sahip olduğu saptanmıştır. Popülasyonların ortalama bitki boy uzunluğu ise 80.02 cm olarak belirlenmiştir. Bitki boyu ortalamaya yakın bir değer (83.08 cm) olan Bursa-Merkez (BUR-C-4) popülasyonu en yüksek gövde çapı değerine (7.00 mm) sahip bulunurken, Kırklareli-Babaeski (KIR-C-4) popülasyonu ise 1.52 mm ile en düşük değeri almıştır. Yaprak uzunluğu genel olarak 6.09 cm [(Kırklareli-Babaeski (KIR-C-4)] ve 28.08 cm [Bursa-Merkez (BUR-C-4)] değerleri arasında değişiklik gösterirken, Kastamonu-Tosya (KAS-C-2) 45.00 adetle en fazla, Samsun-Bafra (SAM-C-12) ise 17.06 ile en az yaprak sayısına sahip popülasyonlar olarak saptanmıştır. Tekirdağ-Hayrabolu (TEK-C-3) 16.29 cm ve Kastamonu-Tosya (KAS-C-12) 11.14 cm sırasıyla en yüksek ve en düşük başak uzunluğuna sahip bulunmuştur. Kastamonu-Tosya 55.06 adet ile en düşük, Tekirdağ-Hayrabolu ise 83.09 adet ile en fazla başak sayısına ait popülasyonlar olarak belirlenmiştir. Ortalama değer 2.40 mm olduğu başak uzunlukları incelendiğinde, Kırklareli-Pehlivan köyü (1.10 mm) ve Bursa-Merkez (4.00 mm) çalışılan popülasyonlar arasındaki veri değişkenliğini temsil etmişlerdir. Başaktaki ışın sayısı bakımından popülasyonlarda mevcut bir farklılık gözlenmezken, BUR-C-4 (30.01 mm) popülasyonu dışındaki diğer tüm popülasyonlar başaktaki ışın uzunluğu bakımından aynı grupta yer almış, aralarında istatistiki olarak farklılık bulunmamıştır. Kastamonu-Tosya başak başına noddaki çiçek sayısı bakımından en düşük (5.09 adet), Bursa-Merkez (32.00 adet) en yüksek veriyi oluşturmuştur. Çiçek yaprak uzunluğu incelendiğinde, Çorum-Osmancık (0.44 mm) ve Kastamonu-Tosya (1.80 mm) mevcut parametreye ait veri değişkenliğini sağlamıştır (veri gösterilmemiştir).

Popülasyonların morfolojik parametrelerine ait korelasyon analizine göre, incelenen morfolojik parametrelerden yaprak uzunluğu ile gövde çapı (0.93 mm), başak uzunluğu (0.87 cm), başaktaki ışın uzunluğu (0.84 mm), başak başına noddaki çiçek sayısı (0.71 adet) ve toprak üstü kuru

biomas arasında istatistiki olarak çok önemli ve olumlu ilişkiler tespit edilmiştir. Aynı şekilde gövde çapı ile başak uzunluğu (0.86 cm), başaktaki ışın uzunluğu (0.83 mm), başak başına noddaki çiçek sayısı (0.70 adet) ve toprak üstü kuru biomass (0.82 g) arasında da olumlu ve çok önemli ilişkiler saptanmıştır. Başaktaki ışın sayısı ile başak başına noddaki çiçek sayısı arasındaki ilişki 0.99 ile korelasyon içerisindeki en önemli değeri bulmuştur. Çiçek yaprak uzunluğu ile başak başına noddaki çiçek sayısı arasındaki ilişki (-0.04) olumsuz ve önemsiz olarak kaydedilmiştir. Pozitif doğrultuda çok önemli ilişkilerden başlıcaları sırasıyla başak uzunluğu ile başaktaki ışın uzunluğu (0.91 mm), başak başına noddaki çiçek sayısı (0.75 adet) ve toprak üstü kuru biomass (0.95 g) arasında görülmüştür. Bunları başaktaki ışın uzunluğunun başak başına noddaki çiçek sayısı (0.76 adet) ve toprak üstü kuru biomass arasındaki (0.90 g) ilişki takip etmiştir. Başak başına noddaki çiçek sayısı ile toprak üstü kuru biomass (0.76 g) arasında önemli ilişkiler tespit edilmiş olup, benzer önem toprak üstü yaş ve kuru biomass (0.75 g) arasında tespit edilmiştir (Çizelge 3).

*C. difformis* popülasyonlarının morfolojik özelliklerine göre yapılan temel bileşen analiz sonucunda elde edilen PC bileşenleri ve bu bileşenlere karşılık gelen faktör grupları Çizelge 4'de verilmiştir. İncelenen toplam 13 özellik arasında toplam varyasyonun %80.07'sini temsil eden 3 PC bileşeni elde edilmiştir. Morfolojik özellikler arasında toplam varyasyonun %50.83'ünün elde edildiği birinci PC bileşenin izahına en fazla katkı sağlayan özellik başak uzunluğu (0.97 cm) olurken, en az katkıyı sağlayan değer ise bitki boyu (-0.01 cm) olmuştur. Yaprak uzunluğu (0.91 cm), gövde çapı (0.91 mm), başaktaki ışın uzunluğu (0.92 adet) ve toprak üstü kuru biomas parametreleri yaklaşık %90'lık varyasyon oranlarıyla önem arz etmişlerdir. Birinci PC ekseninde bitki boyu gibi çiçek yaprak uzunluğunun (-0.06 cm) en düşük olumsuz etkisi oluşturdukları varyasyon bakımından önemsiz bulunmuştur. İkinci PC ekseninde %17.31'lik varyasyonun oluşumunu başaktaki ışın sayısı (0.96 adet) ve başak başına noddaki çiçek sayısı (0.95 adet) oldukça yüksek pozitif ilişkisi temsil ederken, yaprak sayısı (0.73 adet), çiçek yaprak uzunluğu (0.89 mm) ve toprak üstü yaş biomass (0.72 g) ise PC3 ekseninde saptanan %11.93'lük varyasyonu açıklamıştır.

Popülasyonların morfolojik parametrelerinin tamamının 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. Birinci grup 2 alt gruptan (1.1 ve 1.2) oluşurken, ikinci ana grubun ise alt grup açılımı sergilemediği belirlenmiştir.

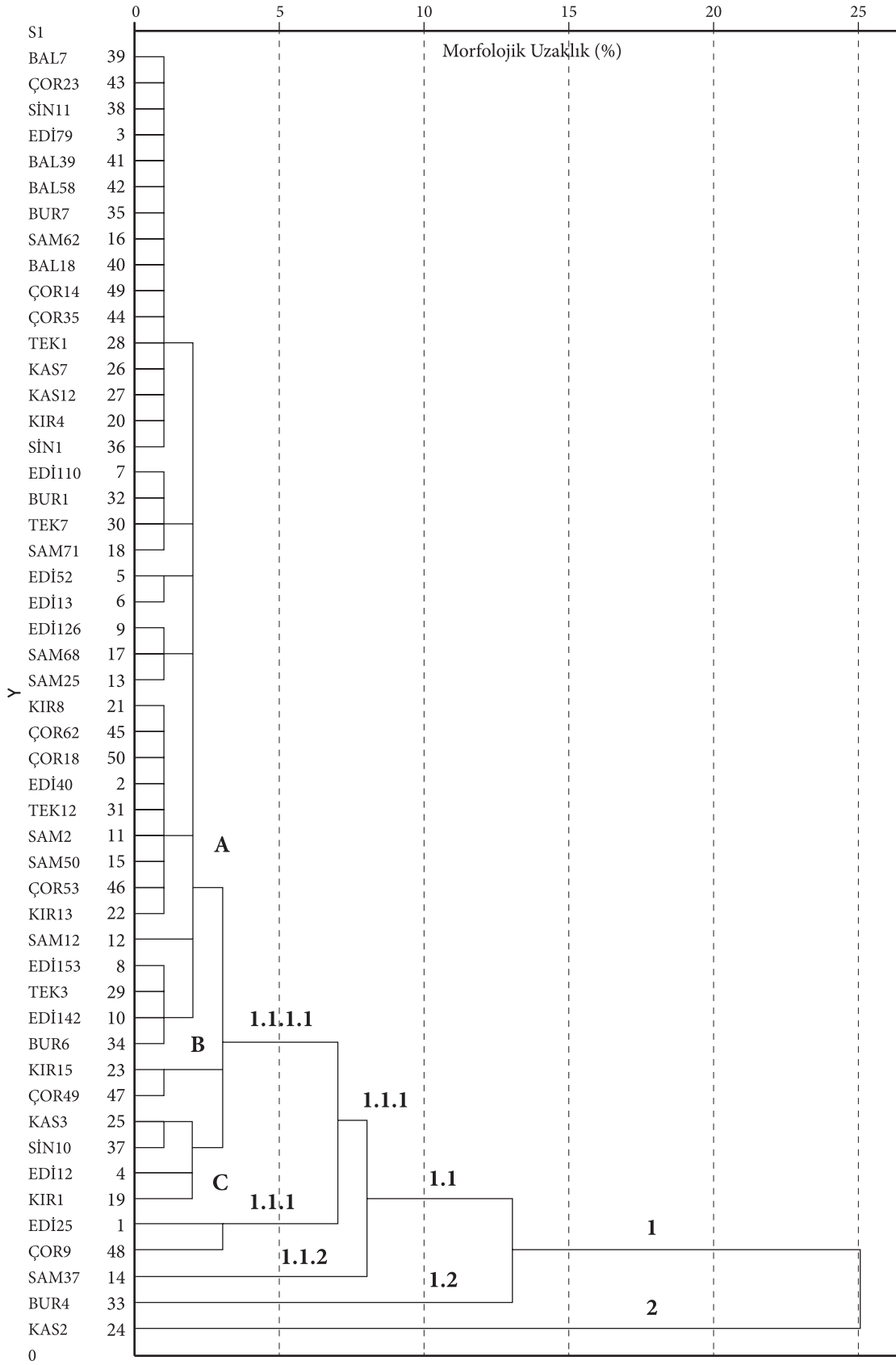
**Çizelge 3.** Morfolojik parametrelere ait korelasyon matrisi

Parametre	BB (cm)	YU (cm)	GÇ (mm)	YS (adet)	BIS (adet)	BSS (adet)	BSU (cm)	BU (cm)	BIU (mm)	BNÇS (adet)	ÇYU (mm)	TUYB (g)	TUKB (g)
BB (cm)	1.00												
YU (cm)	0.11	1.00											
GÇ (mm)	0.08	0.93	1.00										
YS (adet)	0.09	0.44	0.48	1.00									
BIS (adet)	0.46	0.17	0.16	0.13	1.00								
BSS (adet)	0.44	0.18	0.17	0.12	0.99	1.00							
BSU (cm)	0.13	0.58	0.59	0.28	0.40	0.40	1.00						
BU (cm)	0.01	0.87	0.86	0.44	0.07	0.07	0.59	1.00					
BIU (mm)	0.14	0.84	0.83	0.46	0.33	0.33	0.66	0.91	1.00				
BNÇS (adet)	0.09	0.71	0.70	0.39	0.23	0.22	0.50	0.75	0.76	1.00			
ÇYU (mm)	0.14	0.11	0.13	0.47	0.14	0.13	-0.04	0.01	0.11	0.32	1.00		
TUYB (g)	0.16	0.53	0.55	0.68	0.24	0.24	0.34	0.56	0.60	0.52	0.52	1.00	
TUKB (g)	0.06	0.83	0.82	0.59	0.14	0.14	0.59	0.95	0.90	0.76	0.22	0.75	1.00

\*BB: Bitki boyu, YU: Yaprak uzunluğu, GÇ: Gövde çapı, YS: Yaprak sayısı, BIS: Başaktaki ışın sayısı, BSS: Başakcık sayısı, BSU: Başakcık uzunluğu, BU: Başak uzunluğu, BIU: Başaktaki ışın uzunluğu, BNÇS: Başakcık başına noddaki çiçek sayısı, ÇYU: Çiçek yaprak uzunluğu, TUYB: Toprak üstü yaş biomass, TUKB: Toprak üstü kuru biomass

**Çizelge 4.** Morfolojik parametrelerin ait oldukları faktör grupları ve bunlara karşılık gelen PC eksenleri

PC EKSENLERİ			
	1	2	3
Özdeğerler	6.61	2.25	1.55
Varyasyon (%)	50.83	17.31	11.93
Kümülatif varyasyon (%)	50.83	68.14	80.07
Faktör katsayıları			
Parametreler	PC1	PC2	PC3
Bitki boyu (cm)	-0.01	0.65	0.14
Yaprak uzunluğu (cm)	0.91	0.05	0.14
Gövde çapı (mm)	0.91	0.04	0.17
Yaprak sayısı (adet)	0.40	0.03	0.73
Başaktaki ışın sayısı	0.13	0.96	0.04
Başakcık sayısı (adet)	0.14	0.95	0.03
Başakcık uzunluğu (cm)	0.71	0.36	-0.12
Başak uzunluğu (cm)	0.97	-0.07	0.10
Başaktaki ışın uzunluğu (mm)	0.92	0.20	0.15
Başakcık başına noddaki çiçek sayısı (adet)	0.76	0.11	0.29
Çiçek yaprak uzunluğu (mm)	-0.06	0.12	0.89
Toprak üstü yaş biomass (g)	0.51	0.14	0.72
Toprak üstü kuru biomass(g)	0.91	0.00	0.34



Şekil 1. Hiyerarşik kümeleme analiz metoduyla oluşturulan morfolojik ilişki dendogramı



## Genetik çalışmalar

*C. difformis*'in toplam 50 popülasyonu için kullanılan 17 primerden OPF3 primeri hariç diğerleri polimorfik RAPD-PCR ürünleri vermiştir. Polimorfik RAPD primerleri ile uzunlukları 100 bp (OPE01, OPF13) ve 1400 bp (A20, OPA01) arasında değişen toplam 210 adet bant elde edilmiştir (Çizelge 5). Elde edilen bu amplifikasyon ürünlerinin 202 tanesinin (%92.00) polimorfik olduğu saptanmıştır. Polimorfik primer başına elde edilen ortalama bant sayısı 13.12 (210/16) ve polimorfik primer başına elde edilen ortalama polimorfik bant sayısı 12.63 (202/16) olarak tespit edilmiştir. En fazla polimorfik RAPD markörü oluşturan primerler A20 (26) ve OPN06 (22) olarak bulunmuştur. En yüksek polimorfizm yüzdesi %100'lük değerlerle A07, OPA08, OPA20, OPAE12, OPF13, OPG06 ve OPN05 primerleriyle elde edilirken, OPF3 primerinde polimorfizm saptanmamıştır (%0). OPF3 haricindeki tüm primerlerde %90 ve üzerinde polimorfizm oranı belirlenmiştir (Çizelge 6).

RAPD-PCR analizi sonucunda *C. difformis* popülasyonları için elde edilen moleküler verilerin Temel Bileşen Analiz sonuçları, varyasyonların %78.59'unu açıklayan 5 PC eksenini ve bunlara karşılık gelen faktör gruplarını işaret etmektedir. Sonuçlara göre toplam varyasyon sırasıyla yaklaşık %42.7, %25.79, %4.45, %3.43 ve %2.18 bulunmuştur. Bu varyasyonları oluşturan birinci-beşinci temel koordinatlar (PCoA1- PCoA5) belirlenip oranların ise birbirleriyle yakın ilişki içinde olduğu saptanmıştır. Birinci temel koordinattaki %42.7'lik varyasyon oluşumunda büyük etki EDİ-C-110 popülasyonundan sağlanırken, %25.79'luk varyasyon oranına sahip 2. koordinat ekseninde pozitif ve negatif birçok etki içerisinde en fazla katkı SİN-C-1 popülasyonundan kaynaklanmıştır. Varyasyonlara sağlanan katkılar altında PCoA3'e ÇOR-C-53'ün, PCoA4'e EDİ-C-12 ve son olarak PCoA5'e BAL-C-39 popülasyonu varyasyonlarda etkin rol oynamıştır (veri gösterilmemiştir).

Hiyerarşik Kümeleme Analizi'nde polimorfik primerlerden oluşan bant indekslerinin var ya da yok şeklinde veri bilgisi esas alınmak suretiyle Average Linkage kullanılarak oluşturulan dendrogram bilgilerine göre 0.25'lik genetik uzaklıkta çalışılan popülasyonların iki ana gruba ayrıldığı görülmektedir (Şekil 2). İncelenen popülasyonlar esas alınarak soy ağacı 2 ana gruba ayrılmaktadır. UPGMA analizine göre oluşturulan soy ağacında KIR-C-8/Kırklareli-Babaeski ile KIR-C-15/Kırklareli-Pehlivan köyü ve EDİ-C-13-EDİ-C-110/Edirne-Meriç<sub>1,2</sub> popülasyonları arasında yüksek benzerlik belirlenmiştir. Birbirine en uzak genetik benzerlik BUR-C-4/Bursa-Merkez ile diğer popülasyonları içeren gruplar arasında saptanmıştır. Jaccard genetik benzerlik katsayısı 0.001 ile 0.965 arasında değişmiştir. Benzerlik indeksleri matrisi incelendiğinde sonuçlar dendrogramı doğrular nitelikte bulunmuştur. Buna göre BUR-C-4 Bursa-Merkez popülasyonu ile diğer popülasyonların benzerlik oranının azlığı diğer bir ifadeyle genetik uzaklığı dikkat çekmiştir. Erişimi aynı illerden sağlanan KIR-C-8 ve KIR-C-15 popülasyonları ile (%97), EDİ-C-13 ve EDİ-C-110 popülasyonları arasında da (%95) en yüksek benzerlik oranları belirlenmiştir.

## TARTIŞMA VE KANI

*C. difformis* popülasyonlarının morfolojik özelliklerine göre yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucunda elde edilen PC eksenleri ve bu eksenlere karşılık gelen faktör grupları değerlendirildiğinde elde edilen bulguların taksonomik sınıflandırmanın 6 grup olarak yapıldığı ve taksonomik mesafenin 0.016 olarak bulunduğu Juraimi et al. (2005)'in çalışmasıyla desteklendiği görülmüştür.

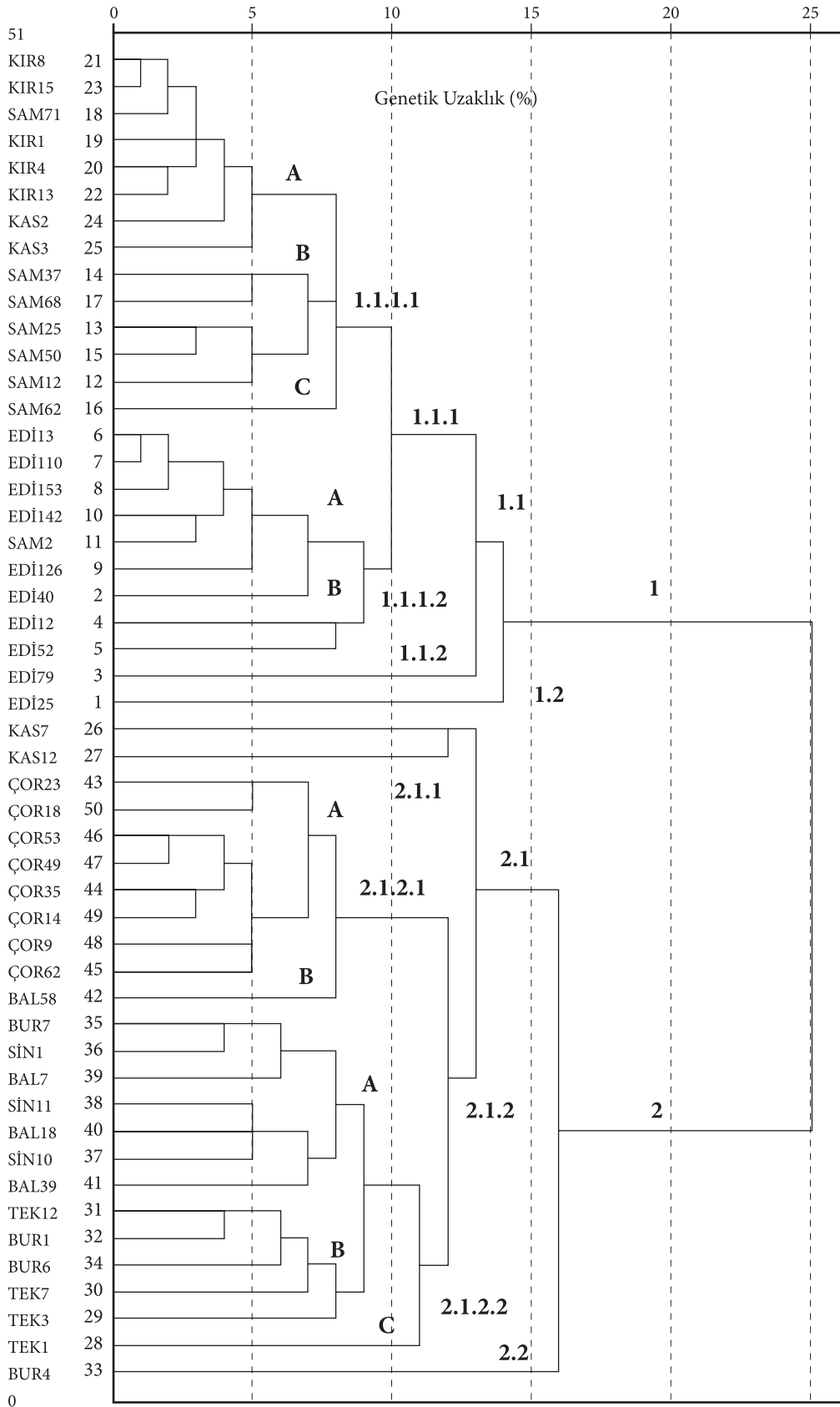
*C. difformis* popülasyonları için elde edilen moleküler verilerde toplam 5 temel koordinat belirlenmiş ve bu koordinatların genetik varyasyonu açıklamadaki oranları %2.18 ile %42.7

Çizelge 5. *Cyperus difformis* popülasyonlarından elde edilen RAPD markörleri

Çalışılan primer sayısı	17
Polimorfik primer sayısı	16
Elde edilen toplam bant sayısı	210
Elde edilen polimorfik fragmentlerin bant büyüklükleri	100-1400 bp
Polimorfik primer başına elde edilen ortalama bant sayısı	13.12
Polimorfik bant sayısı	202
Polimorfik primer başına elde edilen ortalama polimorfik bant sayısı	12.63
Polimorfik primerlerden elde edilen polimorfizm yüzdesi	92.00

**Çizelge 6.** RAPD-PCR reaksiyonlarından elde edilen bant karakteristikleri

Sıra	Primer	Bant Büyüklüğü	Toplam Bant Sayısı	Monomorfik Bant Sayısı	Polimorfik Bant Sayısı	Polimorfizm (%)
1	A07	400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1050, 1100	15	0	15	100
2	A20	450*, 480, 500, 540, 550, 600, 620, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1020, 1040, 1050, 1100, 1150, 1200, 1210, 1250, 1300, 1350, 1400	26	1	25	96
3	OPA01	650*, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1050, 1100, 1120, 1270, 1300, 1400	14	1	13	93
4	OPA03	450*, 570, 600, 620, 680, 800, 900, 950, 1050, 1120	10	1	9	90
5	OPA08	400, 450, 470, 520, 580, 600, 605, 610, 700	10	0	10	100
6	OPA20	550, 580, 610, 680, 780, 1000	6	0	6	100
7	OPAE12	320, 380, 410, 430, 510, 530, 550, 560, 720, 740, 810, 830, 840, 850, 950, 1200, 1300	17	0	17	100
8	OPE01	100, 120, 130, 150, 180, 200, 240, 280, 300, 380, 420, 580	12	0	12	100
9	OPF3	420*, 510*, 680*	3	3	0	0
10	OPFO4	120*, 180, 200, 280, 310, 350, 400, 510, 520, 530, 800, 850, 1000, 1120	14	1	13	93
11	OPF13	100, 210, 280, 310, 400, 580, 680, 700, 900	9	0	9	100
12	OPG 06	400, 410, 500, 550, 680, 700, 850, 1200	8	0	8	100
13	OPN05	200, 240, 370, 390, 450, 500, 510, 600, 650, 710, 750, 850, 950, 1000	14	0	14	100
14	OPNO6	300, 380, 390, 400, 500, 550, 580, 620, 810, 820, 830, 840, 850, 860, 890, 910, 920, 930, 1000, 1080, 1100*, 1200	22	1	21	95
15	OPNO9	600, 650, 680, 700, 750, 800, 850, 900	8	0	8	100
16	OPN10	300, 350, 420, 500, 510, 600, 610	7	0	7	100
17	OPN12	110, 250, 300, 350, 450, 500, 900, 600, 650, 680, 700, 750, 800, 850, 900	15	0	15	100
<b>TOPLAM</b>			<b>210</b>	<b>8</b>	<b>202</b>	<b>92</b>



Şekil 2. Hiyerarşik kümeleme analiz metoduyla oluşturulan genetik ilişki dendrogramı

arasında değişim göstererek Danquah et al. (2002) tarafından yapılan çalışmadaki komponent ve varyasyon bulguları açısından benzerlik göstermiştir.

Morfolojik çalışmalardan elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında, moleküler çalışmalardan daha detaylı veriler elde edilmiştir. RAPD çalışmalarında 17 farklı 10 mer'lik primer kullanılmıştır. Çok sayıda primer kullanılması genetik haritalamanın yapılmasında etkili olmaktadır (Vellend 2005). Ancak Millan et al. (1996) gülda 10 primerin, Demeke et al. (1996) soyada 12 primerin, Rajaseger et al. (1997) ve Abad et al. (1998) *Cyperus esculentus* L. için 27 primerin, Ixora çeşitlerinde 6 primerin, Schontz and Rether (1999) İtalyan çiminde 4 primerin, Tasrif et al. (2004), Juraimi et al. (2005) *E. crus-galli* var. *crus-galli*'de 4 primerin, Tayyar et al. (2003) 35 popülasyon için 16 primerin, Merotto et al. (2010) 75 SRAP markörünün *C. difformis* için Danquah et al. (2002) 6 AFLP primeri ve 5 mikrosatellit primerinin *E. crus-galli*'de polimorfizmi belirlemede yeterli olabileceğini belirtmişlerdir. Ren et al. (2005), çeşitler arasındaki varyasyon, yüksek düzeyde bulunmuş ise az sayıda primerin kullanılmasının yeterli olabileceğini ifade etmişlerdir. Ülkemizde ise 14 SSR ve 23 RAPD primeri kullanılmak suretiyle *Polygonum cognatum* Meissn. genotiplerinin moleküler çalışmaları yürütülmüş (Önen et al. 2010) ayrıca *Oxytona* seksiyonuna giren yabancı haşhaş türlerinde de 12 SSR ve 22 RAPD primerleri kullanılmak suretiyle teknikler başarı ile uygulanmıştır (Parmaksız et al. 2009).

Çalışmada kullanılan 17 primerin 16'sından polimorfik bant oluşumu sağlanmıştır. Farklı araştırmacılar tarafından *Cyperus* türlerinde (Abad et al. 1998, Okoli et al. 1997, Tayyar et al. 2003) aynı primerlerin kullanılarak benzer sonuçların elde edilmesinin doğru primer seçimi ile ilişkili olabileceği yargısına varılmıştır.

RAPD yöntemi ile kodlayıcı ve kodlayıcı olmayan DNA dizilerinin rastgele primerlerle taranabilmesi, daha yüksek düzeyde genetik varyasyonun saptanmasına olanak tanıdığı, genetik çeşitlilik çalışmalarında RAPD markör sisteminin oldukça kullanışlı olduğu ve güvenilir sonuçlar verdiği bilinmektedir (Pujar et al. 1999). Çalışmada RAPD-PCR amplifikasyonu sonucu oluşan bant profilleri ve Jaccard benzerlik oranı, Tayyar et al. (2003) tarafından *C. rotundus* ve *C. esculentus* türleri üzerinde yapılan çalışmadaki 185-1500 bp arasında değişen bant büyüklükleri, 0,003 ile 1,000 arasında değişen benzerlik oranlarıyla paralellik arz etmiştir. Arkansas'daki (Hill et al. 1994, Rutledge et al. 2000) ve İspanya'daki (Lopez-Martinez et al. 1999) *E. crus-galli* popülasyonları arasındaki genetik polimorfizm oranlarıyla da benzerlik arz eden bu değer, incelenen popülasyonlardaki genetik çeşitliliğin bir göstergesi olarak ifade edilebilmektedir.

Genetik benzerlik oranı %1 ile %96.5 arasında değişiklik arz etmekle beraber, bu bulgular *Vicia pisiiformis* popülasyonları arasındaki varyasyonun morfolojik analizler ve RAPD markör sistemiyle incelenmesi neticesinde Samuelsson et al. (1997)'nin elde ettikleri sonuçlar ile ve *Cyperus* türleri üzerinde çalışan Tayyar et al. (2003)'ün sonuçlarıyla benzerlik göstermiştir. Ayrıca Budak et al. (2004) RAPD yöntemi ile yaptıkları araştırma sonucunda, elde edilen %57'lik bir genetik ortalamasının sonuçları değerlendirmede güvenle kullanılabilirliğini ifade etmişlerdir. Çalışmada kullanılan primerler yüksek düzeyde polimorfizm göstermiş ve sonuçların isabetli değerlendirilmesi açısından olumlu sonuçlar vermiştir.

Moleküler dendogramda, morfolojik dendograma kıyasla coğrafi izolasyonlar daha net şekilde görülebilmektedir. Popülasyonların morfolojik olarak aynı grup içerisinde yer almalarına rağmen coğrafi olarak geniş bir yayılıma sahip olma nedenleri arasında örneklerin toplandığı çeltik alanlarındaki toprak işleme ve hasat makineleriyle taşınma gösterilebilmektedir. Yüksek fenotipik benzerlik gösteren ekotipler genetik benzerlik göstermeyebilir (Vellend 2005). Bunun nedeni ise farklı gen havuzlarının oluşabileceği gerçeğidir. Filogenetik veriler incelenerek popülasyonlardaki zaman içerisinde değişen oranlarda meydana gelen gen akışının ve ifadelemeyi sağlayacak varyasyonla ilişkili genlerin doğru şekilde değerlendirilerek, genetik ve morfolojik benzerliklerin izahının birlikte yapılmasıyla doğru yorumlamaya gidilebileceği düşünülmektedir. Benzer görüşler Bromham et al. (2002) tarafından da ifade edilmektedir.

Genetik çeşitlilik gen taşınma oranıyla ters orantılıdır. Yani popülasyonlar arasında genetik çeşitlilik ne kadar yüksekse gen taşınması o kadar az, ya da bunun tam tersidir denilebilir (Merotto et al. 2010). Bazı çalışmalarda gen taşınması popülasyonlar arası mesafeye, yetiştirme sistemlerine, tozlaşma özelliğine, bitkiye, çevresel koşullara ve vektörlere bağlı bulunurken (Levin and Kerster 1974) bunun tam aksi popülasyonlar arasındaki genetik ilişkilerin coğrafi uzaklıkla bağlantılı bulunmadığı araştırmalar da mevcuttur (Merotto et al. 2009). Çalışmamızda ise hem UPGMA dendogram bilgilerinin hem de çapraz dayanıklılık oranlarının yorumlanması neticesinde genetik ilişkilerin her zaman coğrafi uzaklıkla ilişkili olmadığı, ancak coğrafi izolasyonun çok net olarak görüldüğü popülasyonların da var olduğu saptanmıştır. Bazı örneklerle durum şu şekilde açıklanabilmektedir. Genetik ilişki dendogramında aynı genetik mesafede bulunan SİN-C-11 (Sinop-Duragan) ile BAL-C-18 (Balıkesir-Gönen) popülasyonları arasında coğrafi uzaklık (yaklaşık 778 km) oldukça fazla olmasına karşın, ikisi de uygulanan tüm herbisitlere karşı dayanıklılık gösterirken yine aynı grupta yer alan ve SİN-C-11 (Sinop-Duragan) ile yakın coğrafi mesafeye

(yaklaşık 26 km) sahip olan SİN-C-1 (Sinop-Saraydüzü) ise herbisitlere duyarlı olarak belirlenmiştir. EDİ-C-13 (Edirne-Meriç) ve EDİ-C-12 (Edirne-İpsala) popülasyonları genetik olarak da (yaklaşık 42 km) coğrafi olarak da yakın mesafede olmasına rağmen EDİ-C-13 tüm herbisitlere duyarlı, EDİ-C-12 ise tüm herbisitlere dayanıklı olarak saptanmıştır. Her ikisi de Çorum-Kargı'dan toplanmış olan ÇOR-C-62 ve ÇOR-C-23'de yine hem genetik hem de coğrafi olarak yakın mesafede bulunmuş fakat her ikisi de aktif maddelere karşı dayanıklılık sergilemişlerdir. TEK-C-12 (Tekirdağ-Malkara) ve BUR-C-6 (Bursa-Merkez) popülasyonları genetik olarak yakın, coğrafi olarak uzak mesafede (yaklaşık 445 km) bulunmakta olup her iki popülasyon da herbisitlere duyarlılık göstermiştir. Ancak TEK-C-12 popülasyonuna hem genetik olarak hem de coğrafi olarak (yaklaşık 45 km) yakın olan TEK-C-1 (Tekirdağ-Hayrabolu) popülasyonunun dayanıklılığı önemli bir unsur olarak karşımıza çıkmıştır. Bütün bu durumlara ilişkin ulaşılan sonuç verilerin genetik ilişki, coğrafi konum ve herbisit aktivitesi üçgeninde değerlendirildiğinde bu üç kavramın birbirleriyle doğrudan ilişkilendirilemeyeceğidir. Ancak bu durum dayanıklı popülasyonların hızlı bir şekilde de yayılma aşamasında olduğunu da ifade eder. Daha önceki çeşitli çalışmalarda yüksek genetik benzerliğe sahip popülasyonlar arasında herbisitlere dayanıklılığın gen taşınması ile yayılabildiği (Merotto et al. 2010, Rutledge et al. 2000, Stankiewicz et al. 2001, Tsuji et al. 2003) ayrıca *C. difformis* gibi yüksek oranda kendine tozlaşma özelliği göz önünde tutulursa gen taşınmasının polenle taşınmadan daha ziyade tohumla yayılmaya gerçekleştiği vurgulanmıştır (Baker et al. 2007). Roy et al. (2000) tarafından da belirtildiği üzere sertifikalı olmayan tohumların bir bölgeden diğer bölgelere taşınarak kullanılmaları ve yüksek adaptasyon yeteneğine sahip olan bu yabancı ot türünün ekildiği bölgeye uyum sürecinin kısa olması nedeniyle genetik olarak farklı olsa da morfolojik olarak yakın grupları oluşturmaları mümkün olabilmektedir. Çapraz tozlaşma, kuvvetli klonal büyüme, eşeyli üreme ve insanlar vasıtasıyla yayılma faktörleri yine varyasyon oluşumunda etkin bir durum sergilemektedir. Bu yargı farklı araştırmacılar tarafından da desteklenmiştir (Dodet et al. 1982, Gugerli et al. 1999, Ren et al. 2005, Tayyar et al. 2003).

Yapılan morfolojik ve moleküler analizlerde incelenen popülasyonlar arasında bazı kantitatif karakterler noktasında farklılıklar tespit edilmiştir. Farklı bölgelerde yetişen *C. difformis* popülasyonları arasında morfolojik bakımdan göz ardı edilmeyecek düzeylerde benzerlikler saptanırken genetik olarak çeşitlilik daha yüksek bulunmuştur. Bu durum gen taşınması noktasında yüksek bir potansiyeli işaret etmektedir.

Sonuç olarak morfolojik ve moleküler çalışmaların birlikte değerlendirilmesi sonucunda popülasyonlar arasında varyasyonun, morfolojik olarak düşük, genetik olarak 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 bağlamda *C. difformis* tohumlarının hem kısa hem de uzak mesafelere yayılım durumunun önlenmesi için tohumluk sektöründe yetkilendirme, pazarlama ve denetlenme hizmetlerinin standartlara uygun yapılmasının, adaptasyon süreçlerinin devamlı olarak izlenmesinin ve bu noktada alınacak önlemlerin yabancı ot mücadele stratejileriyle entegre edilmesinin önem arz ettiği unutulmamalıdır.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma doktora tezinden üretilmiş olup, TÜBİTAK TOVAG-1080371 ve Ondokuz Mayıs Üniversitesi PYO. ZRT.1905.10.002 nolu projeler kapsamında yürütülen çalışmaların bir kısmını içermektedir.

## ÖZET

*Cyperus difformis* L. (Kız otu) dünya genelinde çeltik üretim alanlarında sorun olan önemli yabancı ot türlerinden biridir. Türün morfolojik ve genetik çeşitliliğinin saptanmasıyla, ülkemizdeki mevcut dayanıklılık olgusuna etkisinin belirlenmesi hedeflenen çalışma kapsamında, çeltik ekim alanlarını temsil edecek şekilde 50 popülasyon ile çalışılmıştır. Morfolojik farklılığı saptamak için 13 farklı parametre incelenmiştir. Analiz sonuçları popülasyonlar arasında morfolojik olarak belirgin farklılığı göstermiştir. Popülasyonlar arasındaki genetik varyasyon 17 oligonükleotid primeri kullanılarak Rasgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD) analiziyle belirlenmiştir. Average Linkage kullanılarak oluşturulan dendogram bilgilerine göre 0.25'lik genetik uzaklıkta çalışılan popülasyonların iki ana gruba ayrıldığı görülmüştür. Yapılan morfolojik ve moleküler analizlerde incelenen popülasyonlar arasında bazı kantitatif karakterler noktasında farklılıklar tespit edilmiştir. Farklı bölgelerde yetişen popülasyonlar arasında morfolojik bakımdan göz ardı edilmeyecek düzeylerde benzerlikler saptanırken, genetik olarak çeşitlilik daha yüksek bulunmuştur. Bu durum gen taşınması noktasında yüksek bir potansiyeli işaret etmektedir. Saptanan olgunun 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 bağlamda *C. difformis* tohum hareketinin azaltılması, çeltik tohumluk trafiğinin ve herbisit kullanımının iyi denetlenmesinin yanısıra, kültürel yöntemler gibi alan yönetimi uygulamalarına odaklanılması gerekmektedir. Bu

noktada alınacak önlemlerin entegre mücadele stratejileri açısından önem arz ettiği unutulmamalıdır.

## KAYNAKLAR

- Abad P., Pascual B., Maroto J.V., López-Galarza S., Vicente M.J., Alagarda J., 1998. RAPD analysis of cultivated and wild yellow nut sedge (*Cyperus esculentus* L.). *Weed Science*, 46, 318-321.
- Arriola P.E., Ellstrand N.C., 1996. Crop-to-weed gene flow in the genus *Sorghum* (Poaceae): Spontaneous interspecific hybridization between Johnsongrass, *Sorghum halepense*, and crop sorghum, *Sorghum bicolor*. *American Journal of Botany*, 83, 1153-1160.
- Backhaus R., Sax H., Wanders K., 1989. Status and perspectives of vegetation monitoring by remote sensing. *Space Technology*, 4, 333-338.
- Baker J., Hidayat Asins M.J., Jose L., Carretero O., 2007. Morphologic and isozyme variation in barnyard grass (*Echinochloa*) weed species. *Weed Technology*, 13, 209-215.
- Barrett S.C.H., Seaman D.E., 1980. The weed flora of Californian rice fields. *Aquatic Botany*, 9, 351-376.
- Bromham L., Woolfit M., Lee M.S.Y., Rambaut A., 2002. Testing the relationship between morphological and molecular rates of change along phylogenies. *Evolution*, 56, 1921-30.
- Brown A.D.H., Marshall B.E., 1981. Evolutionary changes accompanying colonization in plants. *Proceedings of the 2nd International Congress of Systematic Evolutionary Biology*, Pittsburgh, 351-363.
- Budak H., Shearman R.C., Gaussoin R.E., Dweikat I., 2004. Application of sequence-related amplified polymorphism markers for characterization of turfgrass species. *HortScience*, 39, 955-958.
- Claerhout S., Reheul D., De Cauwer B., 2015. Sensitivity of *Echinochloa crus-galli* populations to maize herbicides: a comparison between cropping systems. *Weed Science*, 55, 470-481.
- Danquah E.T., Johnson D.E., Riches C., Arnold G.M., Karp A., 2002. Genetic diversity in *Echinochloa* spp. collected from different geographic origins and within rice fields in Cote d'Ivoire. *Weed Research*, 42-5, 394.
- Demeke T., Lynch D.R.L., Kawchuk M., Kozub G.C., Armstrong J.D., 1996. Genetic diversity of potato determined by random amplified polymorphic DNA analysis. *Plant Cell Reports*, 15, 662-667.
- Dodet M., Petit R.J., Gasquez J., 2008. Local spread of the invasive *Cyperus esculentus* (Cyperaceae) inferred using molecular genetic markers. *Weed Research*, 48, 19-27.
- Fritsch P., Rieseberg L.H., 1992. High outcrossing rates maintain male and hermaphrodite individuals in populations of the flowering plant *Datisca glomerata*. *Nature*, 359, 633-636.
- Gaiotto F.A., Bramucci M., Grattapaglia D., 1997. Estimation of outcrossing rate in a breeding population of *Eucalyptus urophylla* with dominant RAPD and AFLP markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 95, 842-849.
- Gjuric R., Smith Jr.S.R., 1996. Identification of cross-pollinated and self-pollinated progeny in alfalfa through RAPD nulliplex loci analysis. *Crop Science*, 36, 389-393.
- Gugerli F., Eichenberg K., Schneller J.J., 1999. Promiscuity in populations of the cushion plant *Saxifraga oppositifolia* in the Swiss Alps as inferred from random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Molecular Ecology*, 8, 453-461.
- Hill J.E., Carriere M.D., Cook J.F., Butler Y.D., Lana P.J., Hare J., 1994. Londax® Resistance management strategies for California rice. *California Weed Science Society*, 46, 180-185.
- Holm L., Plucknett D., Pancho J., Herberger J., 1977. *The World's worst weeds: Distribution and biology*. University of Hawaii Press, Honolulu, 609p.
- Işık K., 1997. Biyolojik çeşitlilik (Biodiversity). *TÜBİTAK Bilim ve Teknik Dergisi*, 30 (350), 84-87.
- Jaccard P., 1908. Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bulletin Societe Vaudoise Science Naturae*, 44, 223-270.
- Juraimi A.S., Tarif A., Kadir J., Sastroutomo S., Napis S., 2005. Morphological and RAPD variability among Malaysian ecotypes of barnyard grass (*Echinochloa crus-galli* var. *crus-galli* (L.) P. Beauv.). *Plant Protection Quarterly*, 20, 2.
- Karn E., Jasieniuk M., 2017. Genetic diversity and structure of *Lolium perenne* ssp. *multiflorum* in California vineyards and orchards indicate potential for spread of herbicide resistance via gene flow. *Evolutionary Applications*, 10, 616-629.
- Kaya-Altop E., Mennan H., 2011. Genetic and morphologic diversity of *Echinochloa crus-galli* populations from different origins. *Phytoparasitica*, 39, 93-102.
- Lee J., Kim C.S., Lee I.L., 2014. Taxonomic review of the genus *Echinochloa* in Korea (II): Inferred from simple sequence repeats. *Weed Turfgrass Science*, 3, 190-195.
- Levin D., Kerster K., 1974. Gene flow in seed plants. *Evolutionary Biology*, 7, 139-220.
- Lopez-Martinez N., Savla P.A., Finch R.P., De Prado R., 1999. Molecular markers indicate intraspecific variation in the

- control of *Echinochloa* spp. with quinclorac. *Weed Science*, 47, 310-315.
- Meekins J.F., Ballard H.E., McCarthy B.C., 2001. Genetic variation and molecular biogeography of a North American invasive plant species (*Alliaria petiolata*, (Brassicaceae). *International Journal of Plant Sciences*, 162 (1), 161-169.
- Merotto A.Jr., Jasieniuk M., Fischer A.J., 2009. Estimating the outcrossing rate of *Cyperus difformis* using resistance to ALS-inhibiting herbicides and molecular markers. *Weed Research*, 49, 29-36.
- Merotto A.Jr., Jasieniuk M., Fischer A.J., 2010. Distribution and cross-resistance patterns of ALS-inhibiting herbicide resistance in smallflower umbrella sedge (*Cyperus difformis*). *Weed Science*, 58 (1), 22-29.
- Michishita Y., 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. Proceedings of the Asian-Pacific Weed Science Society, 215-219.
- Millan T., Osuna F., Cobos S., Torres A.M., Cubero A.M., 1996. Using RAPDs to study phylogenetic relationships in *rosa*. *Theoretical and Applied Genetics*, 92, 273-277.
- Nei M., 1972. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of National Academy of Science of the United States of America*, 70, 3321-3323.
- Nei M., Li W.S., 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction, endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 76, 5269-5273.
- Nissen S.J., Masters R.A., Lee D.J., Rowe M.L., 1995. DNA-based markers systems to determine genetic diversity of weedy species and their application to biocontrol. *Weed Science*, 43, 504-513.
- Okoli C.A.N., Shillings D.G., Smith R.L., Bewick T.A., 1997. Genetic diversity in purple nutsedge (*Cyperus rotundus* L.) and yellow nutsedge (*Cyperus esculentus* L.). *Biological Control*, 8, 111-118.
- Önen H., Gebologlu N., Parmaksız İ., Kaya C., 2010. Orta Anadolu orijinli *Polygonum cognatum* Meissn. (Madımak) genotiplerinin moleküler ve agronomik özellikleri ile allelopatik potansiyellerinin belirlenmesi. TÜBİTAK Kesin Sonuç Raporu, 177s.
- Özer Z., Önen H., Tursun N., Uygur F.N., 1999. Türkiye'nin bazı önemli yabancı otları. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, 38, 229.
- Pala F., Mennan H., 2016. Güneydoğu Anadolu Bölgesi pamuk alanlarında bulunan Horoz ibiği (*Amaranthus* spp. türlerinin, yaygınlıklarının ve yoğunluklarının belirlenmesi. Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 21 (2), 139-148.
- Parmaksız I., Önen H., Yıldırım A., Gümüşçü A., İpek A., Arslan N., 2009. Türkiye doğal florasında yetişen *Papaver* cinsi *Oxytona* seksiyonuna ait gen havuzunun RAPD ve SSR teknikleriyle genetik karakterizasyonu, morfolojik ve alkaloid kompozisyonlarının kromozom sayılarıyla ilişkilendirilmesi. TÜBİTAK Kesin Sonuç Raporu, 116s.
- Pujar S., Tamhankar S.A., Gupta V.S., Naik S., Ranjekar P.K., 1999. Arbitrarily primed-PCR based diversity assessment reflects hierarchical groupings of Indian tetraploid wheat genotypes. *Theoretical and Applied Genetics*, 99, 868-876.
- Rajaseger G., Tan H.T.W., Turner I.M., Saw L.G., Kumar P.P., 1997. Random Amplified Polymorphic DNA variation among and within selected *Ixora* (Rubiaceae) populations and mutants. *Annals of Botany*, 84, 253-257.
- Ren M.X., Zhang Q.G., Zhang D.Y., 2005. Random amplified polymorphic DNA markers reveal low genetic variation and a single dominant genotype in *Eichhornia crassipes* populations throughout China. *Weed Research*, 45, 236-244.
- Roy S., Simon J.P., Lapointe F.J., 2000. Determination of the origin of the cold-adapted populations of baryard grass (*Echinochloa crus-galli*) Eastern North America total evidence approach using RAPD-DNA and DNA sequences. *Canadian Journal of Botany*, 78, 1505-1513.
- Rutledge J., Talbert R.E., Sneller C.H., 2000. RAPD analysis of genetic variation among propane-resistant and-susceptible *Echinochloa crus-galli* populations in Arkansas. *Weed Science*, 48, 669-674.
- Samuelsson S.B., Eriksson G., Gustafsson L., Gustafsson P., 1997. RAPD and morphological analysis of the rare plant species *Vicia pisiformis* (Fabaceae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 61, 325-343.
- Santaella J.P.R., Bastida F., Franco A.R., De Prado R., 2006. Morphological and molecular characterization of different *Echinochloa* spp. and *Oryza sativa* populations. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 54, 1166-1172.
- Schontz D., Rether B., 1999. Genetic variability in foxtail millet, *Setaria italica* (L.) P. Beauv. identification and classification of lines with RAPD markers. *Plant Breeding*, 118, 190-192.
- Stankiewicz M., Gadamski G., Gawronski S.W., 2001. Genetic variation and phylogenetic relationships of triazine-resistant and triazine-susceptible biotypes of *Solanum nigrum*: Analysis using RAPD markers. *Weed Research*, 41, 287-300.
- Sterling T.M., Thompson D.C., Abbott L.B., 2004. Implications

of invasive plant variation for weed management. *Weed Technology*, 18, 1319-1324.

Swain D.J., Nott M.J., Trounce R.B., 1975. Competition between *Cyperus difformis* and rice and the effect of time of weed removal. *Weed Research*, 15,149-152.

Tasrif A., Juraimi A.S., Kadir J., Sastroutomo S.S., Napis S., 2004. Genetic diversity of *Echinochloa crus-galli* var. *crus-galli* (L.) Beauv. (Barnyardgrass: Poaceae) ecotypes in Malaysia and Indonesia as revealed by RAPD markers. *Asian Journal of Plant Sciences*, 32, 231-238.

Tayyar I.R., Nguyen J.H.T., Holt J.S., 2003. Genetic and morphological analysis of two novel nutsedge biotypes from California. *Weed Science*, 57, 731-739.

Thullen R.J., Keeley P.E., 1979. Seed production and germination in *Cyperus esculentus* and *C. rotundus*. *Weed Science*, 27, 502-505.

Tsuji R., Fischer A.J., Yoshino M., Roel A., Hill J.E., Yamasue Y., 2003. Herbicide-resistant late watergrass (*Echinochloa phyllopogon*) similarity in morphological and amplified fragment length polymorphism traits. *Weed Science*, 51, 740-747.

Tyndall R.W., 1983. Distribution of *Cyperus difformis* Cyperaceae in the Southeastern USA. *Castanea*, 48, 277-280.

Vellend M., Geber M.A., 2005. Connections between species diversity and genetic diversity. *Ecology Letters*. <http://www.blackwellSnergy.Ecology> (Erişim tarihi: 02.04.2009).

Vilatersana R., Garnatje T., Susanna A., Garcia-Jacas N., 2005. Taxonomic problems in *Carthamus* (Asteraceae): RAPD markers and sectional classification. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 147, 375-383.

Yabuno T., 2001. Taxonomy and phylogeny of the genus *Echinochloa*. In: *Natural History of Genus Echinochloa*, revised edn (Eds. by Yabuno T., Yamaguchi H.). Zennokyo Shuppan, Tokyo, 15-30 p.

Yamaguchi H., Umemoto S., Masanaga Y., 1996. Studies on barnyardgrasses, especially on non-shattering form of *Echinochloa oryzicola* Vasing., in Yungui plateau, China. *Weed Research Japan*, 41, 111.

Ye W.H., Mu H.P., Ge C., Ge J., 2004. Genetic structure of the invasive *Chromolaena odorata* in China. *Weed Research*, 44 (2), 129-135.