

# ÇEMEN (*Trigonella foenum graecum L.*) BİTKİSİNDE SİTOLOJİK ARAŞTIRMALAR

Yaşar KARADAĞ

Güngör YILMAZ

Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü

**Özet:** Bu araştırma GOÜ. Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Sitoloji Laboratuvarında 1996 yılında yapılmıştır. Araştırmanın materyali Tarla Bitkileri Bölümü'nde yürütülen çemen denemelerinden alınmıştır. Bu tohumlar da Konya yöresi kökenli olup, populasyon niteliğindedir.

Çemenin kök uçlarında kromozom sayımları yapılarak, karyogram ve idiogramları incelenmiştir.

Sitolojik araştırmalar, *Trigonella foenum graecum L.*'da somatik kromozom sayısının  $2n = 16$  olduğunu göstermiştir. Ayrıca, çemenin dördüncü kromozomlarında sat-kromozomlara ve ikincil yapılarla rastlanmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Çemen, sitoloji, karyotip, idiogram.

## A RESEARCH ON THE CYTOLOGICAL CHARACTERS OF FENUGREEK (*Trigonella foenum graecum L.*) PLANTS

**Abstract:** This research was conducted in cytological laboratory in Department of Agronomy, Agricultural Faculty, University of Gaziosmanpaşa in 1996.

The materials of this study were occurred from fenugreek trials that was carried out in Department of Field Crops. This seeds were originated Konya areas and formed population.

The results of the cytological studies showed that the chromosome numbers of fenugreek (*Trigonella foenum graecum L.*) was  $2n = 16$ . Also, it has been found sat-chromosome and secondary constriction at the fourth chromosome of fenugreek. Root tips of fenugreek were examined chromosome numbers, karyotype and idiograms.

**Key Words:** Fenugreek, cytology, karyotype, idiogram.

## Giriş

Baklagil yembitkileri çok yönlü kullanım alanları ile insan yaşamında büyük bir öneme sahiptir. Bu bitkiler bir yandan hayvan yemi olarak kullanılması; diğer yandan da erozyonu önlemesi bakımından önem taşımaktadırlar. Ayrıca Rhizobium bakterileriyle ortak yaşama girdikleri için havanın serbest azotunu toprağa fikse ederler (1).

Çemen (*Trigonella foenum graecum L.*) Leguminosea familyasının papilionaceae alt familyasından tek yıllık otsu bir bitkidir. *Trigonella* cinsi çoğu Akdeniz ve Doğuda olmak üzere 50 kadar türü içermektedir (2). Ancak sadece *Trigonella foenum graecum L.* türünün kültürü yapılmaktadır.

Çemen bitkisinin yeşil aksamı, yeşil bakla kabukları, taze sürgün uçları ve özellikle tohumları insan, yeşil ve kuru otu ise hayvan beslenmesinde kullanılmaktadır. Tohumları besleyici ve çeşni verici özelliğinden dolayı baharat olarak ve ayrıca içerdikleri alkaloidlerden dolayı da tedavide kullanılmaktadır (3,4).

Türkiye'de çemen üretiminde kullanılan belirlenmiş tescilli bir çeşit yoktur. Belirli yörelerden temin edilen populasyon halindeki çemen tohumlarının üretimi sözkonusudur (3). Yembitkisi çeşitlerinin geliştirilmesinde yabancı populasyonlar ve mevcut çeşitler başlangıç materyali olarak kullanılabilir (1).

Çemenin Tokat ili ve civarında kimyon, karabiber, yenibahar ve sarımsak gibi baharatlarla karıştırılarak özel kahvaltılık çemen olarak kullanımı oldukça yaygındır. Bu amaçla Tokat ilinde 100 tondan fazla çemen tohumu kahvaltılık çemen üretiminde kullanıldığı ilgili firmalarca ifade edilmektedir. Buna karşılık gerekli tohumların il dışından temin edildiği belirlenmiştir.

Yeni bir çeşit ıslahının ilk ve önemli safhalarından birisi üzerinde çalışılan materyalin sitolojisinin belirlenmiş olmasıdır. Sitolojik çalışmalarda türlerin kromozom sayıları, kromozom morfolojileri ve varsa markör karakterleri belirlenebilmektedir. Böylece melezleme çalışmalarında döllerin melez olup olmadığı, meyotik eşleşmelerin düzenli olup olamayacağı ve kromozom anormalliklerin olup olmadığı tesbit edilebilmektedir (5). Bunlar yeni bir çeşit ıslahında gerekli olan son derecede önemli temel adımlarıdır.

## Materyal ve Metot

### Materyal

Bu araştırma 1996 yılında yapılmıştır. Araştırmanın materyali, Konya yöresi kökenli olup, GOÜ. Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nde yürütülen çemen denemelerinden elde edilen tohumlar kullanılmıştır.

### Metot

Kök örneklerinin hazırlanması Hatipoğlu (1), Elçi (6,7,8), Evans (9), Gülcan (10) ve Heneen ve Runemark (11)'in tarif ettiği yönteme göre yapılmıştır. Sitolojik çalışmalarda, kök ucu örnekleri sabah 10-11'de alınmıştır. Petri kutusunda çimlendirilen ve gelişmeleri iyi olan kökler 1.0-1.5 cm uzunluğunda iken bir pens veya makasla kesilmiştir. Kesilen kök parçaları 3-4 saat oda sıcaklığı şartlarında alfa-monobromonaftalinin sudaki doymuş çözeltisi (100 ml musluk suyu 4 damla monobromonaftalin) bulunan küçük şişelere konulmuştur. Kök uçları bu çözelti içinde 3 saat bekletilmiştir. Üç saat sonunda şişeler içerisindeki çözelti boşaltılmış ve kök uçları üç defa saf su ile yıkanmıştır. Daha sonra yarım saat glasiyel asetik asitte kökler tespit edilmiş ve materyal % 70'lik alkolde muhafazaya alınmıştır. Buradan alınan kökler 3 defa saf su ile yıkandıktan sonra Darlington ve La Cour (12)'a göre hazırlanan Feulgen çözeltisi içinde 1 saat süre ile bekletilmiştir. Kök uçları mor bir rengi aldıktan sonra Feulgen sıvısı süzülerek yerine musluk suyu ilave edilmiştir. Daha sonra bu kök uçlarından ezme yöntemine göre preparatlar hazırlanmıştır. Preparatların hazırlanmasında ortam sıvısı olarak % 1'lik aseto karmin çözeltisi kullanılmıştır.

Hazırlanan preparatlar Jenamed-2 mikroskop yardımıyla incelenmiş ve kromozom sayımı yapılabilecek hücreleri içeren preparatlar Elçi (8) 'nin tarif ettiği yönteme göre sürekli preparatlar haline getirilmiştir. Çok iyi dağılmış metafaz kromozomlarını içeren hücrelerin bulunduğu daimi preparatlardan fotomikroskopta bu hücrelerin fotoğrafı çekilmiştir.

Elde edilen resimlerin 5 tanesinde kromozomların uzun kolu, kısa kolu ve satelit uzunlukları 0.1 mm hassasiyetle ölçülmüştür. Bu ölçümler sırasında sentromerler gibi

boyanmayan kısımlar ve satelit ile taşıyıcı kol arasındaki mesafeler ölçüme dahil edilmemiştir. Satelitli kromozomlarda satelit uzunluğu taşıyıcı kol uzunluğuna ilave edilerek söz konusu kromozom kolunun uzunluğu hesaplanmıştır.

Elde edilen bu değerler kullanılarak her hücredeki her bir kromozom için Krikorian ve ark. (13) 'nın vermiş olduğu formüllerden yararlanılarak aşağıda belirtilen değerler hesaplanmıştır.

**Kromozom uzunluğu** = Kısa kol uzunluğu + Uzun kol uzunluğu

**Kromozom kol oranı** = Uzun kol uzunluğu : Kısa kol uzunluğu

Bu değerler dikkate alınarak her hücrede homolog kromozomlar belirlenmiştir. Daha sonra her bir hücrede belirlenen homolog kromozomları diğer hücrelerde de saptayabilmek için her hücrenin haploid kromozom takımındaki her bir kromozom için belirtilen oransal kromozom boyu hesaplanmıştır.

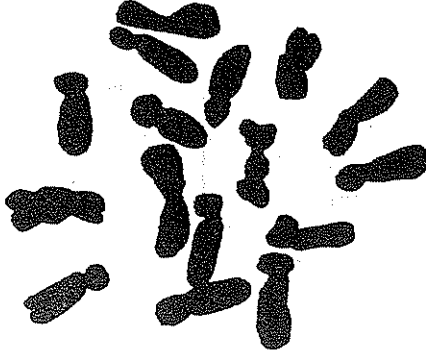
**Oransal Kromozom Boyu** = (Kromozom uzunluğu : Haploid kromozom takımının toplam uzunluğu) x 100

Oransal kromozom boyları esas alınarak haploid kromozom takımındaki her bir kromozom 5 hücrede tanımlandıktan sonra, her kromozomun 5 hücredeki homologları için belirlenen kromozom boyu ve kol oranı değerlerinden yararlanılarak söz konusu kromozomun ortalama kromozom boyu , kol oranı ve oransal boyu hesaplanmıştır. Bu hesaplamalar dikkate alınarak kromozomların idiogramı çizilmiştir. İdiogramda kromozomlar boylarına göre büyükten küçüğe doğru sıralanmıştır. Kromozomların sentromer yerlerine göre adlandırılmasında Levan ve ark. (14) tarafından kullanılan terminoloji esas alınmıştır.

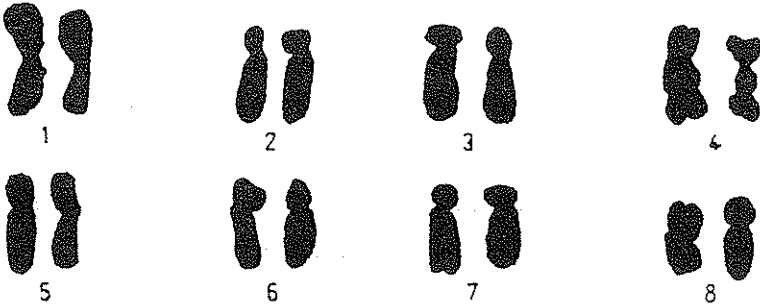
### **Bulgular ve Tartışma**

İncelenen çemen (*Trigonella foenum graecum L.*) Bitkisinde Mitoz Kromozomların Morfolojik Özellikleri

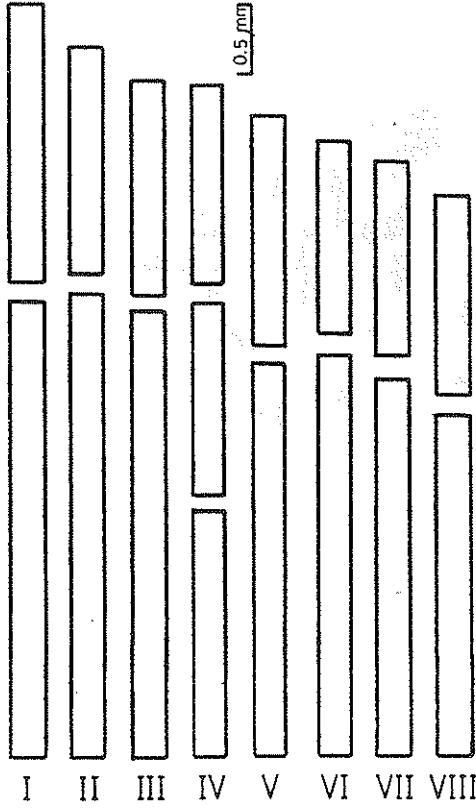
Bu bitkide yapılan sitolojik çalışmalar sonucunda, somatik kromozom sayısı  $2n = 16$  olarak bulunmuştur (Şekil 1). Karyogramı Şekil 2, İdiogramı ise Şekil 3'de gösterilmiştir. Kromozom morfolojilerine ait ölçümler Çizelge 1'de verilmiştir.



Şekil 1. Çemen bitkisinin metafazdaki somatik kromozomları ( $2n= 16$ ) x 3000



Şekil 2. Çemende (*Trigonella foenum graecum*) karyogram.



Şekil 3. Çemende (*Trigonella foenum graecum*) İdiogram

Kromozom I : En uzun kromozom olup, boyu  $5.40 \mu\text{m}$ 'dir. Sentromeri median durumdadır. Ortalama kol indeksi 1.56, oransal boyu 7.21'dir.

Kromozom II : İkinci derecede uzun kromozomdur. Boyu  $5.12 \mu\text{m}$ 'dir. Submedian sentromeri vardır. Kromozom kol indeksi 1.89, oransal boyu 6.82'dir.

Kromozom III : Kromozom boyu  $4.87 \mu\text{m}$ 'dir. Sentromeri submedian durumdadır. Kol indeksi 1.96, oransal boyu 6.49'dur.

Kromozom IV : Bu kromozom 6.36'lık oransal boy ile haploid kromozom takımının 4. derecede uzun kromozomdur. Boyu 4.75  $\mu\text{m}$ 'dir.

Çizelge 1. Çemen Kromozomlarının Morfolojik Özellikleri

Krom.	Kromozom Boyu ( $\mu\text{m}$ )			Kol İndeksi			Oransal Boyu		
	No.	Ort.	Min.	Mak.	Ort.	Min	Mak.	Ort.	Min.
I	5.40	4.70	6.27	1.56	2.50	1.03	7.21	6.69	7.85
II	5.12	7.63	5.87	1.89	3.03	1.05	6.82	6.54	7.66
III	4.87	4.37	5.46	1.96	3.85	1.22	6.49	6.22	6.78
IV	4.75	4.36	5.04	1.22	1.49	1.06	6.36	5.54	7.53
V	4.61	4.13	5.03	1.61	2.86	1.16	6.15	5.88	6.40
VI	4.42	4.07	4.97	2.04	3.03	1.47	5.90	5.75	6.09
VII	4.28	4.04	4.53	1.82	2.50	1.20	5.71	5.55	5.91
VIII	4.02	3.50	4.37	1.64	2.50	1.27	5.36	4.86	5.65

Sentromeri median durumdadır. Bu kromozomda ikincil bir yapı gözlenmiştir. Kısa kolu üzerinde bulunan heterokromatik bölge, küçük bir sateliti bu kromozomdan ayırır. Ortalama kol indeksi 1.22, oransal boyu 6.36'dır.

Kromozom V : Boyu 4.61  $\mu\text{m}$ 'dir. Median durumda sentromeri bulunmaktadır. Kol indeksi 1.61, oransal boyu 6.15'dir.

Kromozom VI : Kromozom boyu 4.42  $\mu\text{m}$ 'dir. Sentromeri submedian durumdadır. Kol indeksi 2.04, oransal boyu 5.90'dir.

Kromozom VII : Boyu 4.28  $\mu\text{m}$ 'dir. Submedian durumda sentromeri bulunmaktadır. Kol indeksi 1.82, oransal boyu 5.71'dir.

Kromozom VIII : Bu bitkinin en küçük kromozomudur. Kromozomun boyu 4.02  $\mu\text{m}$ 'dir. Sentromeri median durumdadır. Kol indeksi 1.64, oransal boyu 5.36'dır.

Bu bitkide kromozom boyları 4.02-5.40  $\mu\text{m}$  arasında değişen kromozomların 8 tanesi submedian (submetasentrik), 4 tanesi de median (metasentrik) sentromerlidir. Kromozomların ortalama kol indeksleri 1.22-2.04 ve oransal boyları 5.36-7.21 arasında değişmektedir. Ayrıca, çemen bitkisinin IV nolu kromozomunda satelit tespit edilmiş olup, bu kromozom haploid kromozom takımının dördüncü derecede uzun kromozomudur. Bu bitkiye ait ezme preparatlarda metafaz kromozom sayısı  $2n = 16$  olarak tespit edilmiş olup, elde ettiğimiz bu sonuçlar Kakoli ve Sumitra (15) ve Fryer (16) tarafından da saptanmıştır. Ayrıca Kakoli ve Sumitra (15) yapmış oldukları kök ucu ezme preparatlarda 2 subterminal, 12 submedian ve 2 tane satelitli kromozom tespit ederken, embriyo ezme preparatlarında 4 subterminal, 10 submedian ve 2 tanede de satelitli kromozomlar tespit etmişlerdir. Yine aynı araştırmacılar kromozom boylarını kök ucu ve embriyolarda sırasıyla 7.5-5.0  $\mu\text{m}$ , 11.5-4.5  $\mu\text{m}$  olarak ve satelitli kromozomların morfolojilerini ise üç koldan bir tanesinin uzunluğunun hemen hemen birbirine eşit olan diğer iki koldan daha uzun olduğunu belirlemişlerdir. Kromozom boyları ve satelitli kromozomların morfolojileri bakımından bulunan bu sonuçlar elde ettiğimiz sonuçlara benzer ve uyum içerisinde bulunurken kromozom idiogramları açısından farklılıklar tespit edilmiştir. Bu farklılıkların incelenen populasyonların genotiplerinden ileri gelebileceği düşünülmektedir.

### Sonuç ve Öneriler

1. Çemen bitkisinin kök uçlarında yapılan sitolojik incelemede metafaz kromozom sayısı  $2n = 16$  olarak tesbit edilmiştir.
2. Mitoz bölünmenin metafaz safhasında dördüncü kromozomu üzerinde bir çift satelit tesbit edilmiştir.
3. Kromozom boyları 4.02-5.40  $\mu\text{m}$ , kol indeksleri 1.22-2.04 ve oransal boyları ise 5.36-7.21 arasında değiştigi belirlenmiştir.
4. Çemenin kök ucu örneklerini alabilmek için tohumlar petri kaplarında filtre kağıdı üzerinde gece 20 °C, gündüz 25 °C olacak şekilde çimlendirildiğinde daha iyi kökler oluşmuştur.



5. Alınan kök ucu örneği sitolojik incelemeler için gerekli tüm aşamalardan geçirildikten sonra Feulgen'i yoğun olarak absorbe eden 1-2 mm'lik kısımlar üzerinde tekrar üç eşit parçaya ayrılıp ezildiğinde; hücrelerin daha homojen ve kromozomların da daha düzgün yayıldığı görülmüştür.

### Kaynaklar

1. Hatipoğlu, R., Hesemann, C.U., Gland., A., Çukurova Üniversitesi Kampüsü İçindeki Doğal Mer'alardan Toplanan Domuz Ayırığı (*Dactylis glomerata*) Populasyonunda Sitolojik Araştırmalar. Ç.Ü.Z.F. Dergisi, 7 (4) : 141-156, 1992.
2. Sinskaya, E.N., Flora of Cultivated Plants of the U.S.R. XII. Perennial Leguminous Plants. Part 1 Medic, Fenugreek. 1961.
3. Arslan, N., Tekeli, S., Gençtan, T., Değişik Yörelere Ait Çemen (*Trigonella foenum graecum L.*) Populasyonlarının Tohum Verimleri VIII. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildirileri. 19.21 Mayıs 1989. İ.Ü. Ecz. Fak. İstanbul.
4. Baytop, T. Türkiye'de Bitkilerle Tedavi. İ.Ü. Yayınları No : 40, İstanbul. 1964.
5. Tosun, F., Sağsöz, S., Bitki Islahı. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Yayınları No: 172, Erzurum, 1994.
6. Elçi, Ş., Memleketimizin Önemli Fiğ Türlerinde Kromozom Sayılarının Tesbiti ve Kromozom Morfolojilerinin Mukayesesi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları : 254, Çalışmalar : 158, 1965.
7. Elçi, Ş., Mitoz Kromozomların Tetkikinin Zor Olduğu Bazı Baklagil Bitkilerinde Kromozom Sayımı ve Karyotip Analizi İçin Elverişli Bir Metod. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları : 282, Çalışmalar : 177, 1966.
8. Elçi, Ş., Sitogenetikte Gözlemler ve Araştırma Yöntemleri, Fırat Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji No. 3, Elazığ, 1982.

9. Evans, L.E., Karyotype Analysis and Chromosome Designations for Diploid *Agropyron elongatum* (Host) P.B., Reprinted from Canadian Journal of Genetics and Cytology. Volume 4, Number 3, Department of Plant Science University of Manitoba, Winnipeg. Manitoba, 1962.
10. Gülcan, H. Sitoloji ve Sitogenetik Laboratuvar Tekniği. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notları No: 18, Adana. 1986.
11. Heneen, W.K. and Runemark, H., Karyotype Studies in *Agropyron junceum*, *A. repens* and Their Spontaneous Hybrids. Hereditas, 48: 471: 502, 1962.
12. Darlington, C.D., and La Cour, L.F., The Handling of Chromosomes, George Allen and Unwin Ltd, London, Sayfa : 144-173, 1962.
13. Krikorian, A.D., O'Connor, S.A and Fitter, M.S., Chromosome Number Variation and "Karyotype Stability in Cultures and Culture-Derived Plants. In: Handbook of Plant Cell Culture Vol. 1, Evans, D.A., Sharp, W.P., Ammirato, P.V. and Yamada, Y. (Eds.), PP: 541-581, McMillan Publishing Company, New York. 1983.
14. Levan, A., Fredga, K. and Sanberg, A., Nomenclature for Centromeric Position on Chromosomes. Hereditas 52 : 201-220, 1965.
15. Kakoli, K, and Sumitra, S., A Comparative Karyological Study of Root and Embryo Tissue of a Few Genera of Leguminosae. Cytologia 56 : 403-408, 1991.
16. Fryer , J.R. Cytological Studies in Medicago, Melilotus and Trigonella. Can. J. Res. 3: -50, 1930.